

**FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID**



**PAPEL DEL ESTRÉS OXIDATIVO Y DEL FGF-21 EN LA
PROGRESIÓN DE LA ARTERIOSCLEROSIS Y EL
SÍNDROME METABÓLICO EN PACIENTES EN
DIÁLISIS.**

Memoria presentada para optar al grado de doctor en Medicina por la
Universidad Autónoma de Madrid

M^a Elena González García

MADRID 2017

A todos los que me han enseñado a aprender

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es el resultado de una labor de equipo, y desde estas líneas quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han contribuido, de una u otra manera, a que este proyecto haya sido posible con su apoyo a lo largo de todos estos años de trabajo: familia, amigos y compañeros.

A los doctores Juan Jose Díez Gómez y María Auxiliadora Bajo Rubio, directores de esta tesis doctoral, por su apoyo, ayuda y animo a lo largo de todos estos años.

Al doctor Rafael Selgas Gutiérrez, por la confianza depositada en mí desde que inicié mis primeros pasos en la Nefrología y por su constante estímulo científico y profesional, sin el que este proyecto no habría sido posible.

A los doctores Gloria del Peso y Pedro Iglesias, por su colaboración en todos los trabajos aquí descritos, sus enseñanzas y por su apoyo a lo largo de todo el camino recorrido.

Al doctor Juan Jesus Carrero y al Prof. Bengt Lindholm, por darme la oportunidad de trabajar y publicar con el Instituto Karolinska-Baxter Novum, así como por su apoyo y orientación durante mi estancia allí. A todo el personal del Instituto, en especial a Thiane y Elvia, por hacerme sentir uno mas del grupo.

A todos los nefrólogos, residentes, enfermeras, psicóloga, auxiliares y administrativos del Servicio de Nefrología del Hospital Universitario La Paz por todos estos años de trabajo en común. Por los buenos y malos momentos, las risas y las lágrimas ... por todas esas horas compartidas a lo largo de los años.

A mi familia, gracias por haberme apoyado siempre. Por estar ahí cuando os he necesitado y por entender y respetar las ausencias que este proyecto ha necesitado. En especial, a mis padres, que me han enseñado el valor del trabajo y del sacrificio, sin los que esto no habría sido posible.

Y como no, a mis amigos, sin quienes todo esto habría sido mucho más difícil. Me habéis animado, consolado y escuchado cuando más lo necesitaba. Por todas esas risas compartidas, los viajes, las comidas y cafés ... Gracias por estar ahí.

ÍNDICE

ÍNDICE

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	11
1.- INTRODUCCIÓN	15
1.1.- Enfermedad renal crónica: prevalencia y morbi-mortalidad asociada.	
1.2.- Tratamiento renal sustitutivo.	
1.2.1.- Diálisis Peritoneal	
1.2.1.1- Conceptos Básicos	
1.2.1.2.- El transporte peritoneal	
1.2.1.3.- Evaluación de la función peritoneal	
1.2.2.- Hemodiálisis	
1.2.2.1- Conceptos Básicos	
1.3.- Inflamación y enfermedad renal crónica	
1.4.- Estrés oxidativo y enfermedad renal crónica	
1.5.- Síndrome metabólico	
1.5.1.- La obesidad central como factor de riesgo cardiovascular	
1.5.2.- Ácidos grasos libres no esterificados	
1.5.3.- Resistencia a la insulina y diabetes mellitus en la enfermedad renal crónica.	
1.6.- El tejido adiposo	
1.6.1.- Adipocitoquinas y enfermedad renal crónica	
1.6.2.-Lipotoxicidad	
1.7.- Factor de crecimiento de fibroblastos-21 (FGF-21)	
2.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	51
2.1.- Hipótesis	

2.2.- Objetivos	
3.- RESULTADOS	57
3.1.- Artículo 1: “Inflamación en diálisis”	
3.2.- Artículo 2: “An increase of plasma advanced oxidation protein products (AOPPs) levels is associated with cardiovascular risk in incident peritoneal dialysis patients. A pilot study”.	
3.3.- Artículo 3: “Análisis de la composición corporal mediante bioimpedancia eléctrica (BIA) y la absorciometría dual de rayos X (Dxa). así como de las adipocitoquinas circulantes en pacientes en hemodiálisis: la ganancia de grasa abdominal como factor de riesgo cardiovascular añadido”.	
3.4.- Artículo 4: “Relationship between leptin and all-cause and cardiovascular mortality in chronic hemodialysis patients”.	
3.5.- Artículo 5: “Análisis repetido de la resistencia insulínica estimada mediante índice HOMA-IR en pacientes no diabéticos en diálisis peritoneal y su relación con la enfermedad cardiovascular y mortalidad”.	
3.6.- Artículo 6: “Fibroblast growth factor 21 (FGF-21) in peritoneal dialysis patients: Natural history and metabolic implications”.	
4.- DISCUSIÓN	151
5.- CONCLUSIONES	163
6.- PERSPECTIVAS FUTURAS	169
7.- BIBLIOGRAFÍA	173
ANEXO A: PUBLICACIONES DERIVADAS DE ESTA TESIS.....	187

ABREVIATURAS

1.- ABREVIATURAS

AGEs: Productos de glicación avanzada

AGNEs: Ácidos grasos no esterificados

AOPPs: Productos avanzados de la oxidación proteica

BIA: Bioimpedancia

CV: Cardiovascular

DM: Diabetes mellitus

DP: Diálisis peritoneal

DPA: Diálisis peritoneal automática

D/P-Cr: cociente a los 240 min dializado/plasma creatinina

DXA: Absorciometría dual de rayos X

ERC: Enfermedad renal crónica

FGF-21: Factor de crecimiento de fibroblastos-21

HD: Hemodiálisis

HTA: Hipertensión arterial

IMC: Índice de masa corporal

MTC: coeficiente de transferencia de masas

MTC-Cr : coeficiente de transferencia de masas de creatinina

PPP: pérdidas proteicas peritoneales

RI: Resistencia a la insulina

SM: Síndrome metabólico

TAC: Tomografía axial computarizada

TEP: test de equilibrio peritoneal

TFG: Tasa de filtrado glomerular

UF: Ultrafiltración

INTRODUCCIÓN

1.- INTRODUCCIÓN

1.1.- Enfermedad renal crónica: prevalencia y morbi-mortalidad asociada

La enfermedad renal crónica (ERC) es un problema sanitario emergente en todo el mundo; tan solo en España, según los resultados del estudio EPIRCE (Epidemiología de la Insuficiencia Renal Crónica en España) (1) aproximadamente el 10% de la población mayor de 18 años presenta algún grado de insuficiencia renal (alrededor del 7% presenta un filtrado glomerular (FG) inferior a 60 ml/min y en el 2% de la población, es inferior a 45 ml/min). La gravedad de la ERC se ha clasificado en 5 estadios en función del FG y de la presencia de proteinuria (Tabla 1)(2).

Tabla 1.- Estadios de la enfermedad renal crónica según el filtrado glomerular.

Estadio	Descripción	Filtrado glomerular (FG) (ml/min/1,73 m ²)
1	Daño renal con FG normal o hiperfiltración	≥ 90
2	Daño renal leve	60-89
3	Descenso moderado FG	30-59
4	Descenso avanzado FG	15-29
5	Fracaso renal	<15 o diálisis

La prevalencia de la ERC estadio 3-5 en mayores de 65 años en este estudio, alcanzó el 23,7%. Estas cifras son algo superiores en la mujer respecto al varón y comparables a las que se observan en otros países occidentales.

Los pacientes con ERC tienen un riesgo aumentado de padecer eventos cardiovasculares (CV) y de mortalidad total y CV, y éste aumenta con la gravedad de la enfermedad renal (3,4). Esta situación se debe a diferentes circunstancias, como la inflamación, la uremia, la malnutrición o la coexistencia

de otros factores de riesgo CV. Tanto es así, que la ERC se considera un factor independiente de riesgo CV (Figura 1) (5,6).

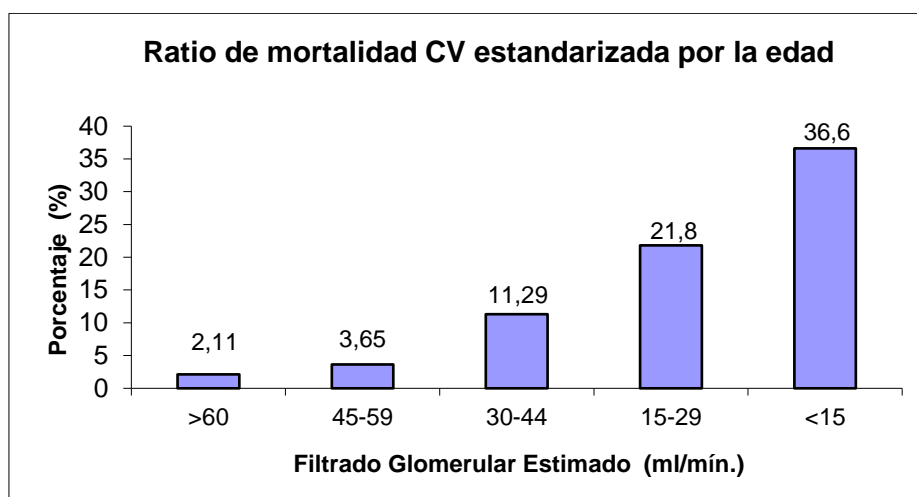


Figura 1.- Prevalencia de mortalidad cardiovascular estandarizada por la edad, según el filtrado glomerular estimado (FGE) (adaptado de ref. (3)).

Además de los factores de riesgo CV tradicionales como la hipertensión, la diabetes y la dislipemia, en los pacientes con ERC hay que considerar otros factores “no-tradicionales” como el estrés oxidativo, el depósito de grasa abdominal o la disfunción endotelial (7,8). En la tabla 2 se muestran los principales factores de riesgo CV.

Tabla 2.-Principales factores de riesgo cardiovascular tradicionales y no tradicionales en ERC

Factores de riesgo cardiovascular
<i>Tradicionales</i>
Edad
Sexo varón
Hipertensión
Hipertrofia de ventrículo izquierdo
Diabetes mellitus
Dislipemia
Habito tabáquico
<i>“Nuevos” o relacionados con la uremia</i>
Inflamación
Estrés oxidativo
Disfunción endotelial
Desnutrición proteico-energética
Activación simpática
Alteraciones de la coagulación
Resistencia a la insulina
Genética
Calcificación vascular
Toxinas urémicas
Nuevas toxinas urémicas
Volumen intravascular
Hipotiroidismo subclínico
Adipocitoquinas
Anemia

1.2.- Tratamiento renal sustitutivo

El tratamiento sustitutivo de la enfermedad renal crónica avanzada (ERCA) incluye la diálisis y el trasplante renal; ambas terapias son complementarias.

El principio básico de la diálisis es filtrar la sangre con el fin de eliminar el exceso de agua y las toxinas y productos de desecho, función realizada habitualmente por los riñones (9). Existen 2 modalidades de diálisis: la hemodiálisis (HD) y la diálisis peritoneal (DP).

1.2.1.- Dialisis Peritoneal

La DP es una técnica basada en la infusión de una solución que contiene un agente osmótico dentro de la cavidad peritoneal, que se mantiene durante un tiempo determinado, permitiendo el intercambio de agua y solutos entre la sangre y la solución de diálisis, y posteriormente proceder al drenaje del fluido parcialmente equilibrado. La repetición de este proceso de forma continuada permite extraer el exceso de líquido y aclarar los productos de desecho y toxinas acumulados en el organismo, así como normalizar los niveles de electrolitos (10). El líquido de diálisis se introduce a través de un catéter, que se coloca en el abdomen del paciente.

1.2.1.1.- Conceptos básicos de la diálisis peritoneal

En la DP se aprovecha la capacidad de la membrana peritoneal para actuar como una barrera semipermeable que permite el transporte de agua, o ultrafiltración (UF), y el de solutos. La transferencia de agua y solutos en DP depende en gran medida de la composición de las soluciones utilizadas. Los agentes osmóticos y los tampones son los principales elementos que nos permiten diferenciar los líquidos disponibles, condicionando la biocompatibilidad de la solución empleada (10).

El agente osmótico más comúnmente utilizado es la glucosa, existiendo

habitualmente tres presentaciones diferentes según la concentración de la misma. La glucosa no es el agente osmótico ideal, ya que se absorbe fácilmente, lo que lleva a una UF de corta duración. Además, su absorción puede conducir a complicaciones metabólicas a nivel sistémico como la hiperglucemia, hiperinsulinismo, obesidad y dislipemia. La glucosa es tóxica *per se*, al afectar a la viabilidad y funcionalidad de las células peritoneales, favoreciendo la formación y acumulación de productos de la glicación avanzada (AGEs; del inglés *advanced glycation end-products*) y condicionando la aparición de alteraciones funcionales de la membrana peritoneal (11,12).

Existen otros agentes osmóticos que se han desarrollado en los últimos años, como la icodextrina (un polímero de la glucosa) y las soluciones de aminoácidos, pero sólo son capaces de sustituir parcialmente a la glucosa por lo que el uso de glucosa continúa siendo universal.

1.2.1.2.- El transporte peritoneal

El peritoneo es una membrana heterogénea que consta de diferentes estructuras: el mesotelio, el tejido intersticial y las estructuras microvasculares. Estas últimas constituyen la principal barrera para el intercambio de agua y solutos entre la sangre y el líquido peritoneal. El modelo de los 3 poros (Figura 2) establece que el transporte de agua y solutos se realiza a través de poros de distinto tamaño existentes en la pared capilar.

Los poros de tamaño pequeño (radio medio de 40 a 50 Å) median el transporte de solutos de bajo peso molecular; mientras que los poros grandes (con un radio medio > 150 Å) constituyen menos del 0,1% del total. Por último, los poros ultra-pequeños (3 a 5 Å), llamados acuaporina-1, son permeables sólo

al agua (Figura 2). El transporte peritoneal se realiza entre la microcirculación y la cavidad peritoneal mediante la combinación de dos mecanismos: difusión y convección.

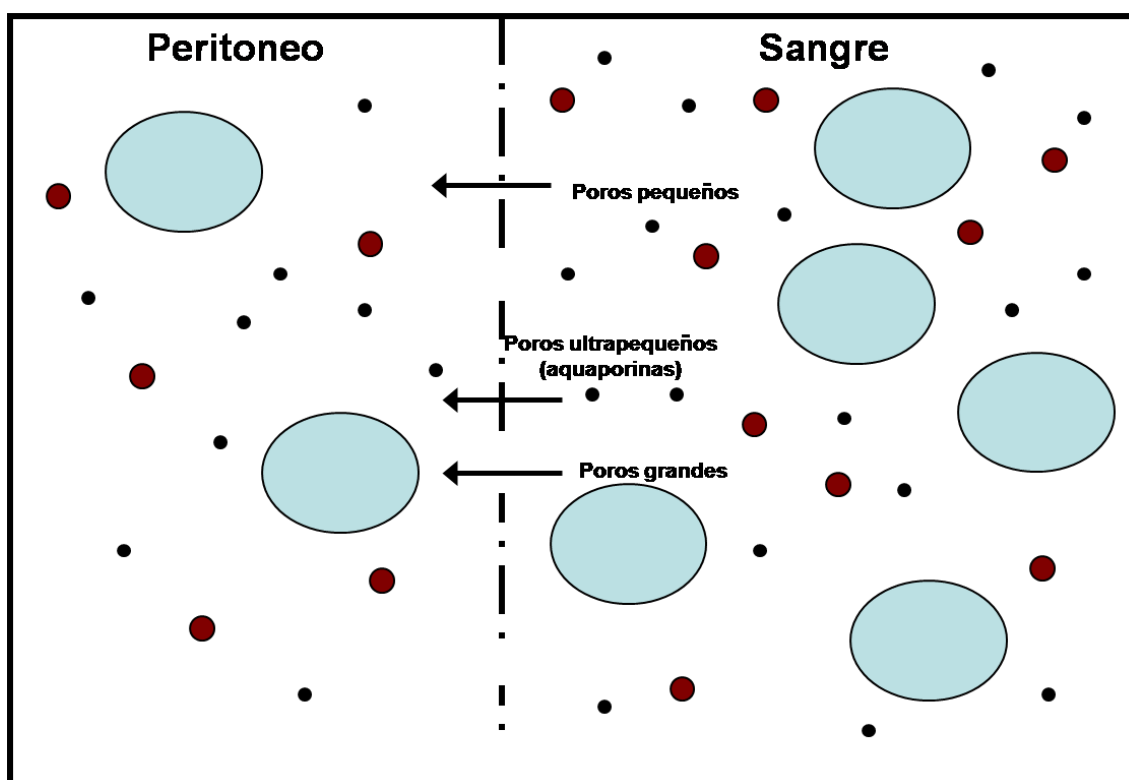


Figura 2. Representación del modelo de los tres poros de la membrana de diálisis peritoneal.

En el transporte de solutos la difusión es el mecanismo principal, y se realiza gracias a la presencia de un gradiente de concentración favorable. La difusión varía directamente en función de la magnitud del gradiente de concentración e inversamente al tamaño del soluto. Por otra parte, el transporte de agua se realiza mediante convección (ultrafiltración), y depende del gradiente osmótico generado por el agente principal de la solución de diálisis y, en el caso del agua libre, de la presencia de aquaporinas endoteliales (13).

1.2.1.3.- Evaluación de la función peritoneal

Durante el tratamiento con DP es fundamental la evaluación funcional de la membrana peritoneal; tanto del transporte de agua como del transporte de solutos.

Esta valoración se realiza habitualmente mediante el test de equilibrio peritoneal (TEP) (14). Esta prueba ha sido posteriormente modificada y estandarizada para su realización con soluciones con glucosa al 3,86/4,25%. Esto permite la evaluación tanto del transporte de solutos de pequeño peso molecular, como de la capacidad de UF y del transporte de agua libre.

La función del peritoneo se puede evaluar mediante la medición de la velocidad a la que los solutos se equilibran entre el dializado y el plasma (15). La relación entre la concentración de creatinina en el dializado y el plasma, llamada cociente D/P-Cr, mide el efecto combinado de la difusión y la UF (16). Usando el cociente D/P-Cr, los pacientes se pueden clasificar en cuatro categorías de transporte: alto (rápido), promedio alto, promedio bajo y bajo (lento) (15,17). Los transportadores rápidos tienen un cociente D/P-Cr mayor de 0,8. Estos pacientes alcanzan un equilibrio rápido y completo de los pequeños solutos debido a un área de superficie de membrana funcional más grande y a una mayor permeabilidad. Los transportadores lentos tienen un D/P-Cr inferior a 0,5 (3,10).

Otra forma complementaria de evaluar el transporte de pequeños solutos es el coeficiente de transferencia de masas por área (MTAC) que representa el máximo aclaramiento difusivo de un determinado soluto en el tiempo cero en máximas condiciones de gradiente de concentración, antes de que el transporte haya comenzado realmente al inicio de la permanencia.

La estimación del transporte de agua se realiza mediante la cuantificación de la UF tras un intercambio con glucosa al 3,86/4,25% durante 4 horas. El transporte de agua libre se calcula a partir de los datos obtenidos tras el drenaje y medida de la UF tras una hora de tiempo de permanencia, o indirectamente con el coeficiente del cribado (sieving) del sodio en ese mismo momento. El flujo de agua, que es debido en parte a las acuaporinas, produce la dilución de la concentración de Na⁺ en el líquido de diálisis, lo que permite calcular el sieving de sodio, que expresa la caída en la concentración de Na⁺ del dializado, habitualmente en torno a 2-4 mEq/l después de 2 horas con dextrosa al 2,27%/2,5%, o una disminución mayor si se utiliza glucosa al 3,86%/4,25% (18).

El transporte de pequeños solutos y de agua en DP cambia con el tiempo y existe gran variabilidad entre los individuos. La bioincompatibilidad de las soluciones de DP utilizadas y los procesos inflamatorios peritoneales intercurrentes son los principales elementos que se han relacionado con estos cambios. Las altas concentraciones de glucosa de los líquidos de DP junto a la presencia de los productos de degradación de la glucosa (PDG) que se generan durante el proceso de esterilización térmica de las soluciones (19) y contribuyen a la formación de AGEs, que se depositan a nivel del peritoneo y ponen en marcha una señal pro-inflamatoria, que induce un proceso inflamatorio (11,12,20,21).

1.2.2.- Hemodiálisis

La HD es una técnica de depuración extracorpórea de la sangre, que suple parcialmente a la función renal. Consiste en utilizar una membrana semipermeable (un filtro o dializador) que se interpone entre 2 compartimentos

líquidos (la sangre del paciente y el líquido de diálisis), lo que permite que circulen agua y solutos de pequeño y mediano peso molecular, pero no proteínas o células sanguíneas (9).

Se basa en dos mecanismos físicos: la difusión o transporte por conducción (debido a la diferencia de concentración entre ambos compartimientos), y la ultrafiltración o transporte por convección (consistente en el paso simultáneo a través de la membrana de diálisis del agua plasmática acompañado de solutos, bajo el efecto de un gradiente de presión hidrostática) (9).

La HD es una técnica fundamentalmente difusiva; la convección queda reservada a la eliminación del agua retenida en el periodo interdialítico. La superficie del dializador, el flujo de sangre y en menor medida el flujo del baño de diálisis son los factores que regulan la difusión de los pequeños solutos. La eliminación de medianas y grandes moléculas por difusión es menos eficaz y depende fundamentalmente de la permeabilidad de la membrana (22).

1.3.- Inflamación, activación endotelial y enfermedad renal crónica

La inflamación es un proceso biológico inducido por una infección o lesión de un tejido (23). El proceso implica el daño y destrucción de los tejidos afectados. La eficacia y capacidad de la respuesta es rápida y específica de la agresión recibida. Cualquiera que sea la causa que activa la respuesta inflamatoria, el propósito de ésta es eliminar la fuente que la causa, para poder restaurar la funcionalidad de los tejidos. Si las condiciones anormales son transitorias, la respuesta inflamatoria aguda consigue devolver al sistema a sus condiciones basales. Si, por el contrario, las condiciones anormales se

prolongan, entonces la respuesta se mantiene y da lugar a una respuesta inflamatoria crónica (24), que puede causar más daño que la agresión desencadenante.

La uremia se asocia a un estado de disfunción inmunológica caracterizado por inmunodepresión, que contribuye a una elevada prevalencia de infecciones en estos pacientes (25). Presentan también una inmunoactivación que da como resultado un proceso inflamatorio crónico, que contribuye a la aparición de eventos CV (26,27). Además en la ERC se produce la acumulación de componentes proinflamatorios o productos del catabolismo, así como una reducción de la actividad antioxidante del plasma (28).

Numerosos estudios implican a la respuesta inflamatoria en el proceso de la lesión vascular (29,30). La activación endotelial se considera el evento inicial en el desarrollo de arteriosclerosis y constituye un mecanismo de respuesta a la agresión. Puede definirse como un desequilibrio en la biodisponibilidad de sustancias activas de origen endotelial que predispone a la inflamación, la vasoconstricción y el incremento de la permeabilidad vascular, y que puede facilitar el desarrollo de arteriosclerosis, agregación plaquetaria y trombosis.

1.4.- Estrés oxidativo y enfermedad renal crónica

El estrés oxidativo contribuye al desarrollo de disfunción endotelial y arteriosclerosis y, por tanto, a la aparición de las diferentes complicaciones CV (31). Se define como el daño tisular producido por el desequilibrio entre la excesiva generación de compuestos pro-oxidantes y la deficiencia de los mecanismos anti-oxidantes.

Las especies reactivas se clasifican en “radicales libres” y “no radicales”. Entre las especies reactivas se encuentran las de oxígeno, las especies reactivas de cloro, y las especies reactivas de nitrógeno (Tabla 3). Las especies reactivas pueden afectar al ácido desoxirribonucleico (ADN), lípidos, proteínas y carbohidratos ocasionando daño, ya sea por oxidación o nitración (32).

Tabla 3.- Principales especies reactivas implicadas en la generación de estrés oxidativo.

Radicales libres	No radicales
Especies reactivas de oxígeno (ROS)	
Superóxido, $O_2^{\cdot-}$	Peróxido de hidrógeno, H_2O_2
Hidroxilo, OH^{\cdot}	Oxígeno singlete, 1O_2
Peroxilo, RO_2^{\cdot}	Peróxido orgánico, $ROOH$
Alcoxilo, RO^{\cdot}	
Carbonato, $CO_3^{\cdot-}$	
Dióxido de carbono, $CO_2^{\cdot-}$	
Especies reactivas de cloro (RCS)	
Cloro atómico, Cl^{\cdot}	Ácido hipocloroso $HOCl^c$
	Cloruro de nitrilo, NO_2Cl^e
Especies reactivas de nitrógeno (RNS)	
Óxido nítrico, NO^{\cdot}	Acido nitros, HNO_2
Dióxido de nitrógeno, NO_2^{\cdot}	Anión nitroxilo, $NO^{\cdot-}$
	Peroxinitrito, $ONOO^{\cdot-d}$
	Ácido Peroxinitroso, $ONOOH^d$

Una molécula antioxidante tiene la función de proteger a una célula diana del daño oxidativo. El sistema de defensa antioxidante está constituido por enzimas con actividad antioxidante que detoxifican las especies reactivas, reduciendo el daño oxidativo, cuyo objetivo fundamental es mantener el equilibrio oxidante/antioxidante. Las principales son la superóxido dismutasa, la catalasa, la glutatión peroxidasa y la glutatión reductasa.

El estrés oxidativo, además, causa un importante daño a las estructuras biológicas y puede aumentar la respuesta inflamatoria. Debido al daño oxidativo, las moléculas pueden modificar sus características espectroscópicas y activar una cascada pro-oxidante y la síntesis de citoquinas inflamatorias en neutrófilos y monocitos (33).

Cuando las proteínas se alteran debido al estrés oxidativo se producen los llamados productos avanzados de la oxidación proteica (AOPPs, del inglés *advanced oxidation protein products*) (34), pero también pueden generarse otras moléculas como los AGEs o los productos avanzados de la lipoperoxidación (ALEs, del inglés *advanced lipid peroxidation end products*). Estos nuevos compuestos oxidados formados pueden constituir una base molecular adicional para una actividad oxidante deletérea, y podrían ser considerados verdaderos mediadores pro-inflamatorios del estrés oxidativo en la uremia (35).

1.5.- Síndrome metabólico

No existe una definición universalmente aceptada para el síndrome metabólico (SM). Su primera definición fue la de la Organización Mundial de la Salud (OMS), que reconoció al SM como una situación de alto riesgo para el desarrollo de enfermedad CV (36). El componente etiopatogénico fundamental en esta definición venía determinado por la resistencia a la insulina. Además, se requería la presencia de al menos otros dos criterios diagnósticos adicionales, para poder ser diagnosticado de SM (Tabla 4).

Otra definición de SM publicada fue la de *National Heart, Lung, Blood Institute/American Heart Association* a través de su *Adult Treatment*

Panel III en 2001 (revisada en 2005) (37). Su intención fue proponer una orientación más clínica para mejorar la detección de pacientes que pudieran desarrollar enfermedad CV (20). En este caso se precisan tres de los cinco criterios propuestos para cumplir el diagnóstico de SM.

La *International Diabetes Federation* (IDF) (38) publicó otra definición en la que pretendió ofrecer una herramienta diagnóstica accesible de forma global. La obesidad abdominal es un criterio imprescindible para poder diagnosticar a un individuo de SM. La obesidad abdominal adquiere umbrales patológicos en función del sexo y de las características étnicas de la población (para individuos europeos, se define como perímetro de la cintura igual o superior a 94 cm en varones y 80 cm en mujeres). Para el diagnóstico de SM según la IDF, se requieren, al menos, otros dos criterios adicionales (Tabla 4).

Tabla 4.- Criterios del síndrome metabólico, según diferentes sociedades científicas.

Factor de riesgo	OMS	NCEP 2005	IDF
IMC	>30		
Cociente cintura/cadera	>0,9 hombres >0,85 mujeres		
Diámetro cintura		> 102 cm > 88 cm	>94 cm blancos >90 cm asiáticos
TG	>150 mg/dl	>150 mg/dl	>150 mg/dl
c-HDL	<35 hombres <40 mujeres	<40	<40
TA (mmHg)	>140/90 o en tto	>135/85 o en tto	>130/85
Glucosa	DM ó intolerancia	>100 mg/dl	>100 mg/dl
Condición necesaria	DM/intolerancia Glu + 2 criterios adicionales	3 criterios cualesquiera	Obesidad central + 2 criterios adicionales

IMC: índice de masa corporal; TG: triglicéridos; c-HDL: lipoproteína de alta densidad; TA: tensión arterial; Glu: glucosa; DM: diabetes mellitus; tto: tratamiento; OMS: organización mundial de la Salud; NCEP: National Heart, Lung, Blood Institute; IDF: International Diabetes Federation.

La prevalencia de SM aumenta con la edad en todas las poblaciones estudiadas (39). El riesgo de enfermedad CV asociado al SM es

aproximadamente el doble en comparación con los individuos que no lo tienen. La Figura 3 muestra los mecanismos patogénicos y complicaciones asociadas con el SM.

Una vez que la ERC alcanza un estadio 3-4, la presencia de SM se asocia con un incremento del riesgo de ERCA (*hazard ratio (HR)*, 1.33) en un periodo de 2-3 años (40), aunque esta relación con la progresión de la ERC no es constante, ya que en estadios tardíos de la enfermedad, el SM pierde importancia como factor de riesgo de progresión.



Figura 3.- Patogénesis y complicaciones del síndrome metabólico (adaptado de ref. (41)).

Dado que los factores de riesgo para la ERC y el SM son comunes, una vez establecidas ambas enfermedades se combinan para acelerar la progresión de la ERC (Tabla 5) (42).

Tabla 5.- Potenciales mecanismos de daño renal en el síndrome metabólico

Mecanismos
Estrés oxidativo
Aumento de citoquinas pro-inflamatorias (leptina, IL-6, TNF- α)
Aumento de factores pro-fibróticos (colágeno tipo IV, factor de crecimiento del tejido conectivo)
Incremento del volumen glomerular e hipertrofia podocitaria
Daño inducido por dislipemia y ácidos grasos no esterificados (AGNEs)
Aumento del daño microvascular y por isquemia (angiotensina II)
Hiperuricemia

1.5.1.- La obesidad central como factor de riesgo cardiovascular

La obesidad se define como un aumento de la grasa corporal, y aunque la proporción de masa grasa varía ampliamente entre individuos, se considera que hay obesidad cuando el porcentaje de masa grasa es superior al 25% en los varones y al 33% en las mujeres (43). En la práctica clínica, se utiliza el IMC ($\text{IMC} = \text{peso (kg)} / \text{talla}^2 \text{ (m)}$) para su diagnóstico, ya que ha demostrado una aceptable correlación con la grasa corporal (44,45).

El exceso de tejido adiposo puede distribuirse por todo el cuerpo o puede concentrarse especialmente en determinadas zonas. Cuando el exceso de grasa se acumula de forma preferente en la cavidad abdominal, se habla de obesidad abdominal, androide o central.

En la práctica clínica habitual, la definición de la obesidad central se basa en el perímetro de la cintura o en el cociente entre el perímetro de la cintura y el perímetro de la cadera (patológico cuando es superior a 1 en el varón y a 0,85 en la mujer). La medición del perímetro de la cintura se debe realizar a la altura del punto medio entre el margen costal inferior y la cresta ilíaca anterior, y la

medición del diámetro de la cadera se realizará a la altura del trocánter mayor. Está demostrado que hay una buena correlación entre el perímetro de la cintura y la grasa intraabdominal (46,47), aunque el punto de corte varía según la población y el sexo estudiado (48). La prevalencia de la obesidad central en población española se estima en torno al 35 % (49).

La obesidad ginecoide o glúteo-femoral se caracteriza en el acumulo de tejido graso en zona de glúteos, caderas y zona fémoro-poplítea. Este tipo de obesidad presenta un cociente cintura cadera no patológico. La obesidad ginecoide conlleva una elevada prevalencia de trastornos circulatorios venosos y mecánicos.

Numerosos estudios han demostrado la relación entre la obesidad en general, y la central en particular, con el desarrollo de diabetes mellitus (DM) (50,51), resistencia a la insulina (RI) (Figura 4)(52–54), alteración del metabolismo lipídico y aumento de la mortalidad CV (55–57). Además, la obesidad abdominal, definida por el perímetro de cintura, constituye un factor de riesgo CV independiente del IMC (57).

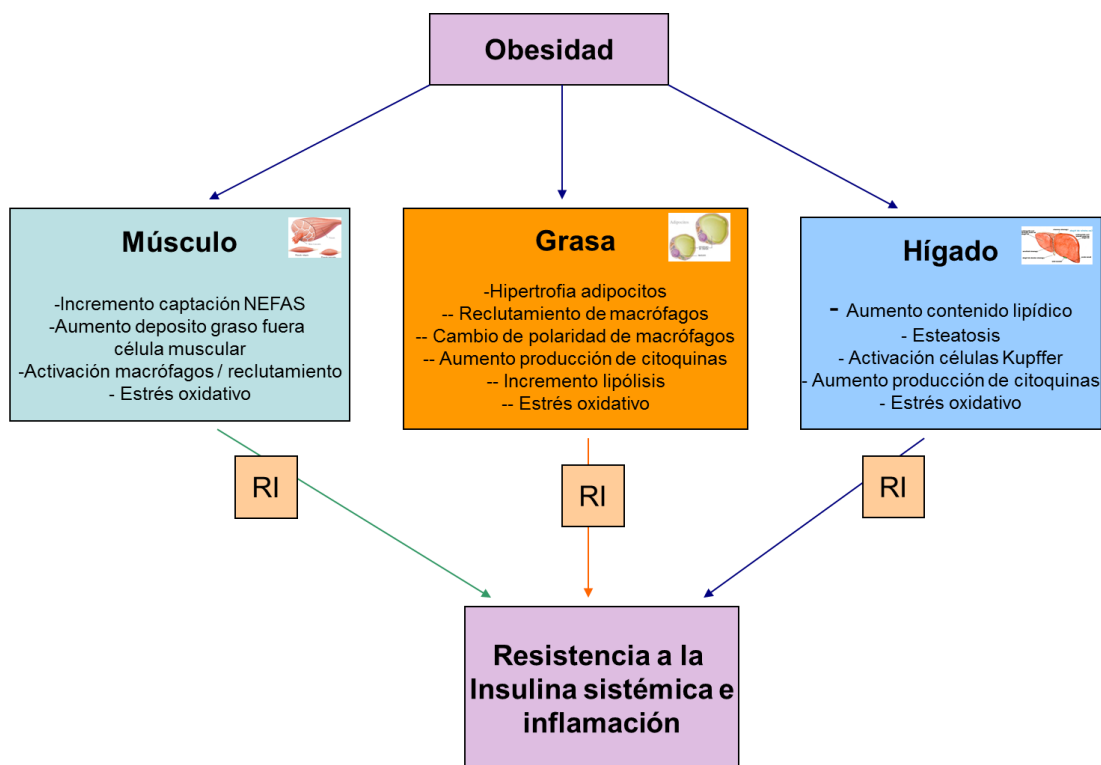


Figura 4.- Relación entre la obesidad y el desarrollo de resistencia a la insulina.

RI: resistencia a la insulina

La obesidad visceral conlleva una elevada prevalencia de trastornos (Tabla 6) debido a que el tejido adiposo intraabdominal tiene más actividad metabólica que el tejido adiposo de otras localizaciones, y a que estos adipocitos abdominales están hipertrofiados, por lo que existe una lipogénesis y lipólisis superior a lo normal.

Tabla 6.- Principales complicaciones asociadas a la obesidad (58).

Principales complicaciones de la obesidad
Metabólicas
Resistencia a la insulina
Diabetes mellitus tipo 2
Síndrome metabólico
Dislipemia aterogénica
Hiperuricemia
Cardiovascular
Hipertensión arterial
Cardiopatía isquémica
Enfermedad cerebrovascular
Insuficiencia cardíaca congestiva
Trombosis periférica
Hipercoagulabilidad
Respiratorias
Síndrome hipoventilación-obesidad
Síndrome de apnea del sueño
Digestivas
Colelitiasis
Esteatosis hepática
Reflujo gastroesofágico
Hernia de hiato
Alteraciones de la mujer
Síndrome de ovario poliquístico
Infertilidad
Otras alteraciones
Insuficiencia venosa periférica
Enfermedad tromboembólica
Cáncer
Depresión
Disminución de autoestima y calidad de vida

1.5.2.- Ácidos grasos libres no esterificados

Los lípidos en los seres vivos desempeñan tres tipos de funciones: energéticas (excelente almacén de combustible metabólico a largo plazo), estructurales (componentes esenciales de las membranas celulares y/o aislamiento térmico) y dinámicas (funciones de control y regulación del metabolismo celular, como algunas vitaminas y coenzimas).

Los ácidos grasos son compuestos orgánicos que poseen un grupo funcional carboxilo y una cadena hidrocarbonada larga que puede tener entre 4 y 36 átomos de carbono. Existen dos tipos principales de ácidos grasos: los saturados, que no poseen dobles enlaces, y los insaturados, que poseen uno o más dobles enlaces a lo largo de su cadena hidrocarbonada.

Los acilglicéridos son ésteres de la glicerina (glicerol), un polialcohol de tres átomos de carbono, con ácidos grasos. La glicerina puede considerarse como un azúcar-alcohol con tres grupos hidroxilo, que pueden reaccionar con uno, dos o con tres ácidos grasos para dar lugar respectivamente a los monoacilglicéridos, diacilglicéridos y triacilglicéridos (triacilglicerolos o triglicéridos).

Los triglicéridos son los más abundantes y de mayor importancia biológica (59). La función de los triglicéridos en las células vivas es de naturaleza energética: constituyen depósitos de combustible metabólico rico en energía al que la célula puede recurrir en períodos en los que escasean los nutrientes procedentes de su entorno (mediante un proceso de oxidación). Se almacenan en forma de gotas microscópicas que forman una fase separada del citosol acuoso circundante. Como sustancias de reserva los triglicéridos presentan dos ventajas significativas: 1) son sustancias altamente reducidas (o hidrogenadas)

por lo que su oxidación libera más del doble de energía que una cantidad equivalente de glúcidos; y 2) al ser sustancias hidrofóbicas, pueden almacenarse en forma anhidra (sin agua).

La síntesis de los ácidos grasos y su oxidación (β -oxidación) son procesos inversos. La β -oxidación convierte un compuesto alifático en un conjunto de acetilos activados metabólicamente, cuyo metabolismo continúa a través del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (ciclo de Krebs) (60). La enzima más importante en la regulación del metabolismo de los ácidos grasos es la acetil-CoA-carboxilasa. Esta enzima cataliza el primer eslabón (etapa limitante) en la síntesis de los ácidos grasos. Su actividad está determinada por el estado energético del organismo, que se controla de manera conjunta y coordinada por tres señales: insulina (estimulando la síntesis), glucagón (induciendo la β -oxidación), y la adrenalina (favoreciendo la lipogénesis).

Durante el ayuno, se activa la actividad enzimática lipasa de los adipocitos (proceso regulado por una mayor actividad de hormonas catabólicas como glucagón y adrenalina), con el resultado de una mayor β -oxidación de los ácidos grasos. La insulina, por el contrario, inhibe la lipólisis e incrementa la actividad lipogénica.

La concentración alta de ácidos grasos contribuye a la aparición de la resistencia a la insulina (61). En el tejido muscular, la utilización de los ácidos grasos limita la capacidad para utilizar la glucosa al cambiar el estado oxidativo de las células e inhibir varias enzimas glucolíticas claves. Por otra parte, el exceso de ácidos grasos en el hígado estimula la producción de glucosa en este órgano y reduce la sensibilidad del mismo a la insulina.

1.5.3.- Resistencia a la insulina y diabetes mellitus en la enfermedad renal crónica

La insulina es un regulador de la ingesta, del balance energético y de la adiposidad corporal. La resistencia a la insulina se define por una disminución de la capacidad de la insulina para ejercer sus acciones biológicas en los tejidos sensibles a la misma (sobre todo el músculo, tejido adiposo e hígado) (62). Constituye la base patológica de numerosas enfermedades metabólicas y en su desarrollo se han implicado diferentes polimorfismos genéticos, así como factores ambientales, como la edad, la obesidad y el sedentarismo, entre otros.

Se emplean fórmulas aproximadas que permiten estimar la sensibilidad a la insulina, como la insulinemia a primera hora de la mañana en ayunas o diversos índices de relación insulinemia/glucemia en ayunas, como el índice Bennett o el HOMA-IR (del inglés, *Homeostais Model Assessment*). El HOMA-IR cuantifica la resistencia a la insulina de un individuo a partir de sus niveles de glucemia e insulina, al compararlos con un modelo informático usado para predecir las concentraciones de insulina para una homeostasis de los niveles de glucemia (63). Este índice es el más conocido y validado (64). Su cálculo se realiza por la siguiente fórmula (65): *Índice HOMA = insulinemia en ayunas (U/ml) x glucemia en ayunas (mmol/l) / 22,5*.

La resistencia a la insulina (RI) es una complicación frecuente en los pacientes con ERC (66,67), incluso en estadios tempranos de la enfermedad. La RI no se correlaciona con la tasa de filtración glomerular.

El principal foco de RI en los pacientes con ERC es el músculo. Se debe al incremento en la prevalencia de los factores de riesgo de la RI, como la obesidad y el sedentarismo, junto con otros específicos de la uremia como la

inflamación, el estrés oxidativo, las toxinas urémicas, la acidosis metabólica o la deficiencia de vitamina D (Figura 5).

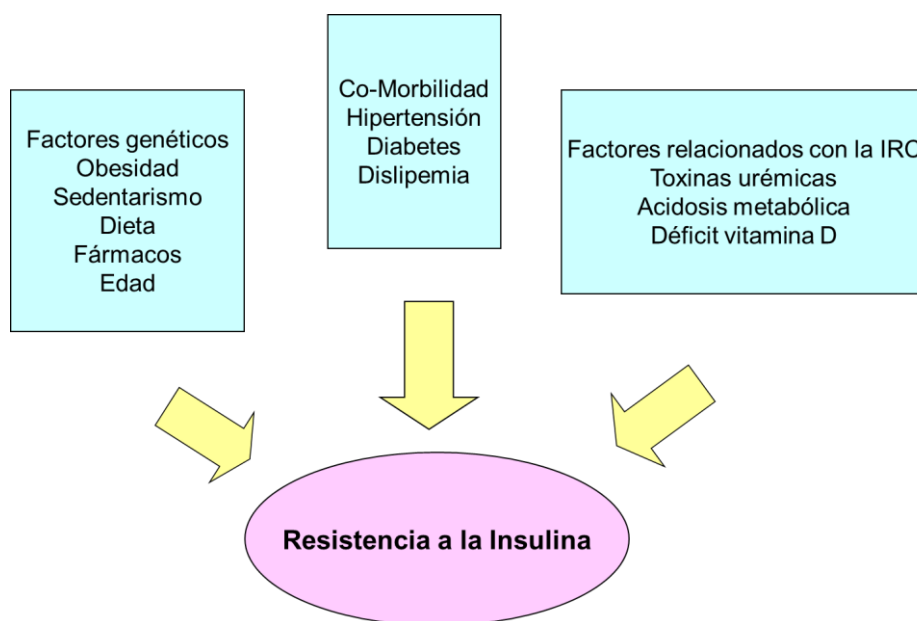


Figura 5.- Factores implicados en el desarrollo de resistencia a la insulina en la insuficiencia renal crónica (adaptado de ref. (67)).

1.6.- El tejido adiposo

El tejido adiposo está compuesto por células (adipocitos) y un componente estromal y vascular, en el cual se forman los pre-adipocitos. Se diferencian 2 tipos: el tejido adiposo blanco (el más abundante y que constituye la reserva energética) y el marrón, que es responsable de la termogénesis. Habitualmente el 80% del tejido adiposo es subcutáneo, mientras que menos del 20%, tiene localización visceral (68).

El tejido adiposo visceral está compuesto de adipocitos más pequeños, está más vascularizado y tiene una mayor innervación simpática, lo que facilita una mayor actividad metabólica. Además, su drenaje venoso se efectúa a través del sistema porta, lo que le posibilita una comunicación directa con el hígado (69).

Desde un punto de vista funcional, los adipocitos viscerales presentan una mayor respuesta a las catecolaminas y una menor respuesta a la acción de la insulina, lo que explica que haya un predominio de la lipólisis sobre la lipogénesis en comparación con el tejido subcutáneo.

Además de su función de almacenar energía, el tejido adiposo tiene también una función endocrina, al ser capaz de liberar numerosas adipocitoquinas; que pueden ser tanto pro-inflamatorias (leptina, resistina, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) o interleuquina 6 (IL-6)), como anti-inflamatorias (adiponectina) (68).

1.6.1.- Adipocitoquinas y enfermedad renal crónica

La leptina es una hormona que interviene en la regulación del peso corporal, al inhibir la vía orexigénica y estimular la anorexigénica. Por medio de señalización a nivel hipotalámico, favorece la lipólisis en el tejido adiposo para conducir los nutrientes al músculo, produciendo un balance energético negativo y reducción de la adiposidad. Además, la hormona atenúa la respuesta de los adipocitos a la insulina e inhibe directamente la secreción de insulina por las células beta del páncreas (70).

Sus niveles están elevados en la obesidad, debido a las altas cantidades de grasa corporal y a la existencia de una cierta resistencia a su acción (resultante de un defecto en el sistema de transporte de leptina en el sistema nervioso central y, además, en la reducción en la traducción de la señal en el receptor de leptina) (71).

El sexo también influye en los niveles de leptina sérica debido a las diferencias en la distribución de grasa corporal entre hombres y mujeres. Las

mujeres presentan valores superiores ya que la obesidad periférica determina la concentración de leptina (más que central) (71).

La leptina tiende a disminuir con la edad, siendo aproximadamente un 50% más baja en los individuos mayores de 60 años (72).

Los niveles circulantes de leptina varían también según el estado de alimentación. En situación de ayuno, se produce una reducción en los niveles circulantes de leptina promoviendo respuesta compensatoria en el balance energético. La leptina se eleva durante el exceso de peso crónico, y reduce sus niveles durante el ayuno y los periodos largos de restricción dietética (73,74). Las dietas ricas en lípidos proporcionan aumento significativo en la concentración de leptina sérica (75). Además, es un modulador de la respuesta inmune ya que estimula la producción de citoquinas proinflamatorias y provoca un aumento significativo de la actividad simpática (76,77).

La adiponectina es una proteína constituida por 244 aminoácidos. Es la adipocitoquina que presenta la mayor expresión en el adipocito (78,79). Sus niveles plasmáticos promedio en humanos son de 5-10 µg/ml. La concentración en sangre guarda una relación inversa con el IMC, que es mayor con la grasa visceral que con la grasa periférica subcutánea. Su concentración plasmática disminuye en individuos con sobrepeso y obesidad (80). La concentración de adiponectina tiene una correlación directa con la sensibilidad a la insulina, independiente de la grasa corporal, principalmente a través de mecanismos de activación de los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs), concretamente el PPAR α , la modulación del estímulo de insulina y la activación de la cinasa de AMP. También se ha observado que se asocia a la disminución de las concentraciones de glucosa sin producir aumento de la

secreción de insulina (81). Además, incrementa la oxidación de ácidos grasos en el músculo estriado y el hígado. Otras acciones de la adiponectina incluyen la reducción de la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales y la producción de citoquinas por los macrófagos. Estas propiedades han promovido el concepto de que la adiponectina pudiera ser una molécula antiaterogénica y antiinflamatorias pudiendo regular negativamente el proceso aterogénico (82).

En los pacientes con ERC, se produce un aumento de los niveles circulantes de adiponectina, que puede ser producido por un incremento en su producción, un descenso en su eliminación renal y/o un aumento de la infiltración por células inmunocompetentes del tejido adiposo. Este aumento es mayor en las adiponectinas pro-inflamatorias, produciéndose un desequilibrio, que podría contribuir a la aparición de resistencia a la insulina, aterosclerosis, inflamación y desgaste energético (83).

En la tabla 7, se presenta un resumen de las alteraciones presentes en la ERC de las principales adipocitoquinas y su significado clínico.

Tabla 7.- Alteraciones de las principales adipocitoquinas en la enfermedad renal crónica.

Adipocitoquinas	Acción biológica	Significado clínico en ERC
Leptina	Refleja el contenido de grasa	Niveles séricos muy elevados
	Control de la ingesta	No relación con anorexia en diálisis
	Apetito	
	Gasto energético basal	Asociada a la inflamación, aterogénesis, perfil lipídico e insulinoresistencia.
	Regulación del recambio óseo	
		Niveles bajos es factor independiente de mortalidad en HD
Adiponectina	Aumenta la sensibilidad a la insulina	Niveles séricos elevados
	Acción antiinflamatoria y anti-aterogénica.	Inversamente asociados con factores metabólicos en la uremia.
	Regulación del recambio óseo	Asociación inversa con eventos CV.
TNF-α	Adipocitoquina pro-inflamatoria	Niveles séricos elevados
	Implicado en la patogenia de la obesidad y resistencia a la insulina.	Expresión génica aumentada en las células circulantes en la uremia.
	Correlación con IMC, grasa corporal e hiperinsulinemia.	Niveles altos asociados con incrementos de la mortalidad en HD
		Anorexia y pobre estado nutricional en DP
IL-6	Adipocitoquina pro-inflamatoria	Niveles séricos elevados
	Hiperglucemia e hiperinsulinemia	Buen predictor de mortalidad
	Resistencia a la insulina	
	Predictivo de diabetes tipo 2	
	Correlación positiva con obesidad	
	Asociación con enfermedad CV	

1.6.2.- Lipotoxicidad

La obesidad está asociada con un incremento en la lipólisis basal, con una disminución en la lipólisis estimulada por catecolaminas; además de coexistir con insensibilidad de los adipocitos a las acciones de la insulina, así como el aumento de la concentración de leptina basal.

El término lipotoxicidad hace referencia a los efectos deletéreos del exceso de los ácidos grasos no esterificados (AGNEs) y a la acumulación de la grasa ectópica que provocan muerte celular o disfunción orgánica (60). En la obesidad, el consumo excesivo de alimentos ricos en hidratos de carbono, combinado con el aumento de la liberación excesiva de AGNEs por parte del tejido adiposo, sobrepasa el límite de almacenamiento y la capacidad de oxidación en tejidos, como músculo esquelético, hígado y células β -pancreáticas. Estos son redirigidos a vías metabólicas dañinas no oxidativas, con acumulación intracelular de metabolitos tóxicos, como las especies reactivas de oxígeno. Finalmente, a consecuencia de estos procesos, se activan las vías de señalización que desencadenan la apoptosis celular.

A consecuencia de la sobrecarga de AGNEs, las células responden de forma distinta, pero todas las respuestas están encaminadas a contener el estrés metabólico a través de varios mecanismos (84):

1) El páncreas responde en un primer momento con la proliferación de las células β y el incremento de la secreción de insulina. En un segundo estadio, las células β cargadas de lípidos desarrollan alteraciones mitocondriales graves debido al daño celular. Como consecuencia aumenta la tasa de apoptosis rebasando la tasa de replicación con pérdida neta de células β , con un declive en la producción de insulina.

2) En el corazón, los mecanismos son similares a los descritos anteriormente, con la pérdida de la contractilidad miocárdica secundaria a la disminución de la población de los cardiomiocitos y depósito de tejido fibroso entre las células (85).

3) En el hígado, la acumulación anormal de lípidos produce esteatosis; cuando la sobrecarga lipídica aumenta y los mecanismos compensatorios son sobrepasados, se produce apoptosis de los hepatocitos, inflamación y el desarrollo de esteatosis no alcohólica. La inflamación crónica lleva a la generación de fibrosis hepática y sus complicaciones (86) (Figura 6).

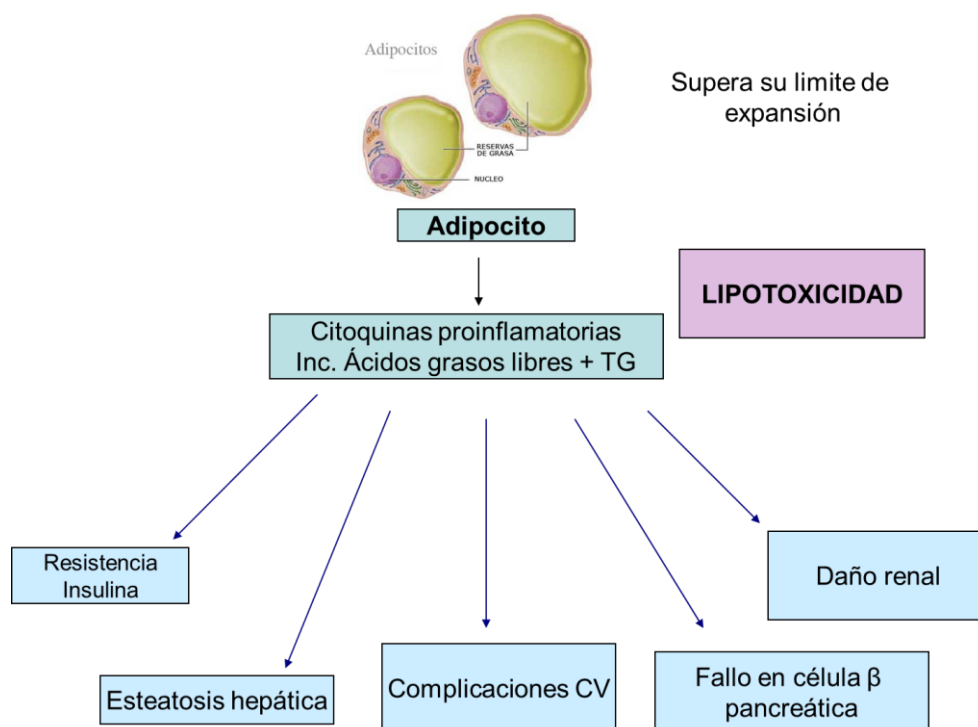


Figura 6.- Principales mecanismos de lipotoxicidad (adaptado de ref. (84)).

Existen varios factores implicados en la lipotoxicidad renal, y por subsiguiente, en la ERC (Figura 7) (87). Por un lado, el riñón se ve afectado por la propia dislipemia, así como por el resto de factores CV sistémicos (hipertensión, DM, etc.). Además, la inflamación sistémica, la activación de

citoquinas y el estrés oxidativo tienen efectos deletéreos sobre el riñón. Por otro lado, se produce un depósito de AGEs, sobre todo a nivel del túbulo proximal, que produciría RI y un efecto tóxico local.

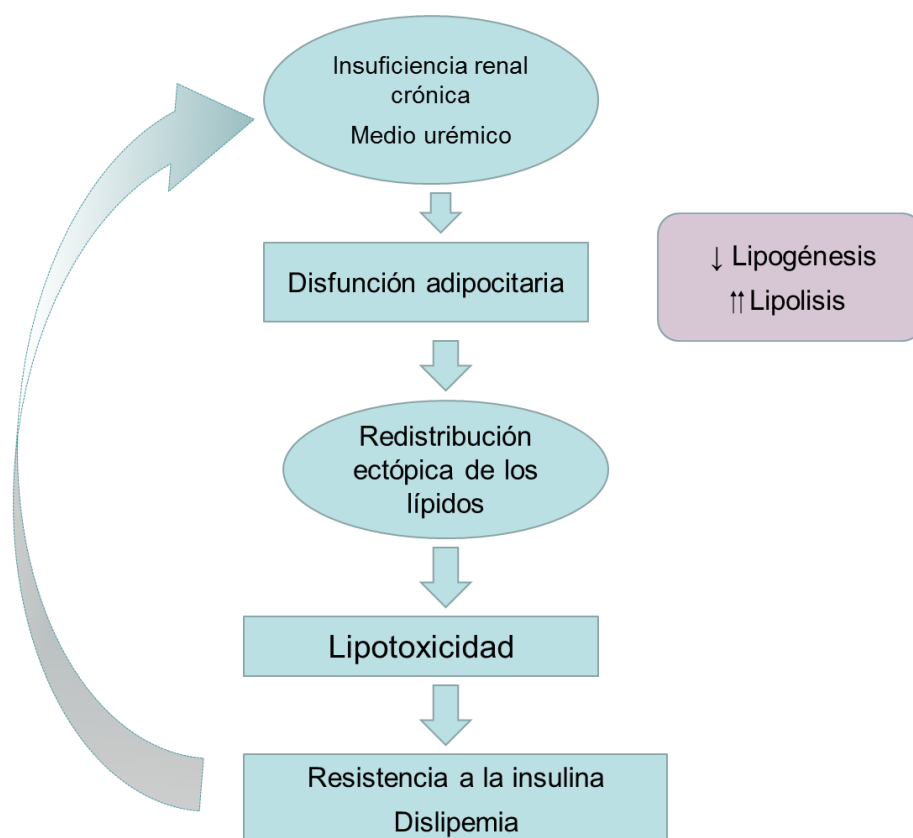


Figura 7.- Mecanismos de lipotoxicidad en la enfermedad renal crónica (adaptado de ref. (87)).

1.7.- Factor de crecimiento de fibroblastos 21

Los factores de crecimiento de fibroblastos (FGFs) son factores de crecimiento polipeptídicos, compuestas por 150-300 aminoácidos, con diferentes acciones sobre el metabolismo, desarrollo y función neuronal. La familia de los FGFs humanos comprende actualmente 22 moléculas (88).

Los FGFs endocrinos (FGF 15/19, FGF-21 y FGF-23) realizan su acción biológica a distancia a través de los receptores de factores de crecimiento fibroblásticos (FGFR) de la superficie celular, con actividad tirosina-quinasa, por lo que funcionan como moléculas señalizadoras hormonales. El FGF-21 está

compuesto por 209 aminoácidos y tiene funciones paracrin y endocrinas. Se une de forma no-covalente y compleja a un co-receptor (β -Klotho), para formar el complejo FGF21- β -Klotho-FGFR. Tanto β -Klotho como el FGFR son necesarios para la transducción de la señal de FGF-21 (Figura 8). Esta activación induce una cascada de señalización intracelular, que estimula la respuesta extracelular de la quinasa de regulación extracelular (ERK) ERK1/2 y de la protein-quinasa B (Akt) (89,90).

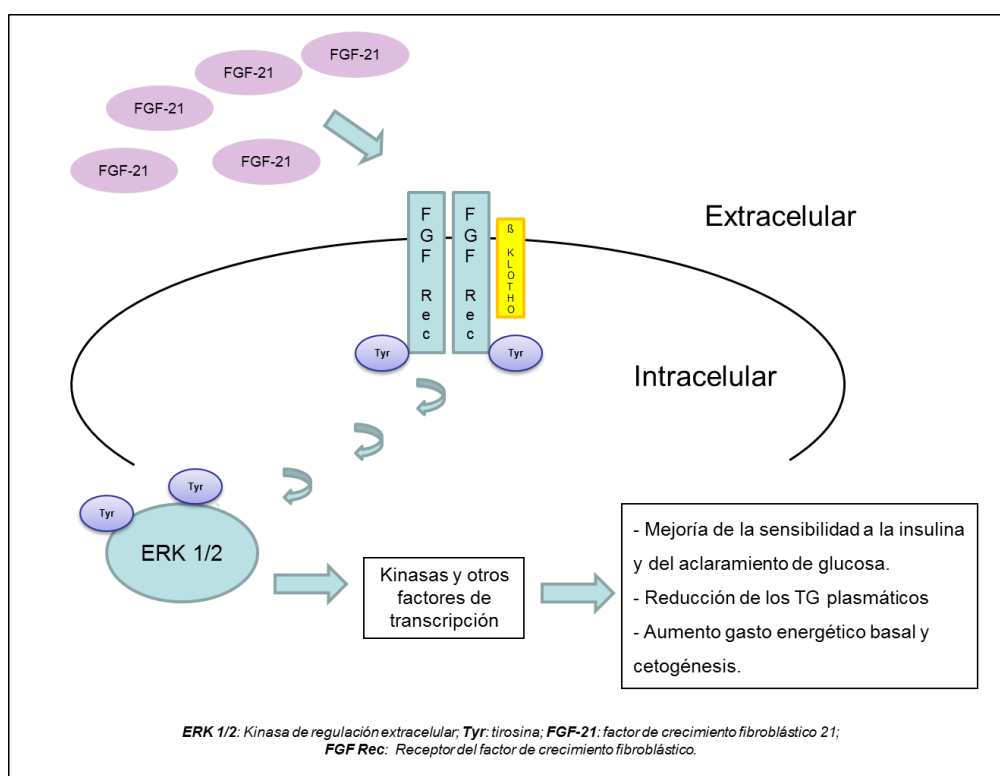


Figura 8.- Mecanismo de activación del receptor del factor de crecimiento de fibroblastos 21 (adaptado de ref. (90)).

El FGF-21 se produce mayoritariamente en el hígado, pero también en otros tejidos, como el tejido adiposo blanco, el músculo y las células β pancreáticas (91). Su expresión hepática está regulada tanto por la ingesta como por el ayuno (Figura 9). El principal estímulo relacionado con el ayuno es el receptor PPAR- α y la proteína-quinasa A estimulada por glucagón. En cambio,

su expresión en el tejido adiposo está regulada por el PPAR- γ y la glucosa (92,93).

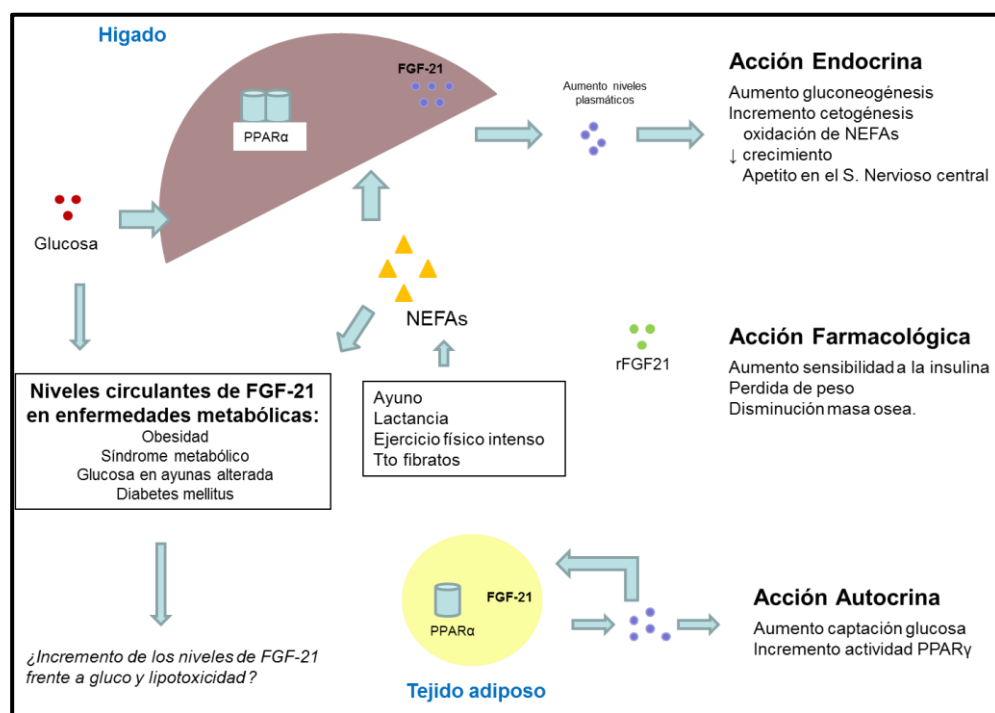


Figura 9.- Principales acciones y mecanismos reguladores factor de crecimiento de fibroblastos 21 (FGF-21) (adaptado de ref. (94)).

El FGF-21 estimula la captación de glucosa, disminuye las concentraciones sanguíneas de glucosa y lípidos, aumenta el gasto energético basal (lo que puede producir pérdida de peso) y sobrerregula la oxidación de los ácidos grasos.

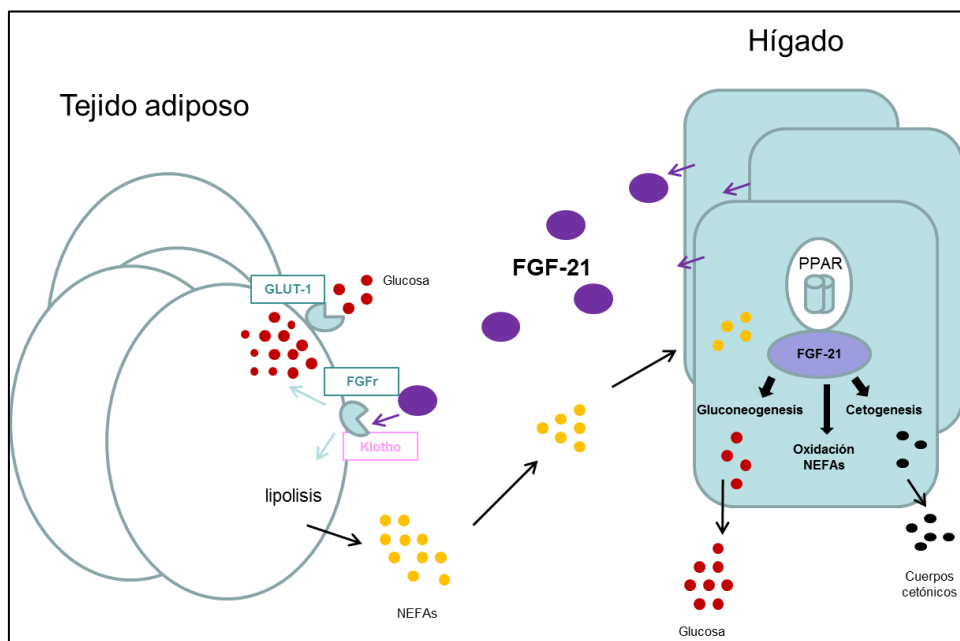


Figura 10.- Mecanismo de absorción de glucosa inducido por el factor de crecimiento de fibroblastos 21 (FGF-21) (adaptado de ref. (95)).

El FGF-21, a través de su unión al complejo β -Klotho-FGFR, estimula la absorción de glucosa a través de la inducción del transportador de glucosa-1 (GLUT-1), proceso que requiere varias horas para su activación secuencial (Figura 10). La absorción de glucosa es adicional e independiente de la insulina. Esta entrada de glucosa en el adipocito, provoca su almacenamiento como triglicéridos (Tabla 8).

Tabla 8.- Principales efectos metabólicos factor de crecimiento de fibroblastos 21(FGF-21) en modelos animales

Efectos metabólicos del FGF-21 en modelos animales
Metabolismo de los carbohidratos
Inducción del GLUT-1 en adipocitos diferenciados
Estimula la captación de glucosa
Disminuye la secreción de glucagón
Mejora la sensibilidad a la insulina y la captación de glucosa
Metabolismo lipídico
Promueve la lipólisis en el tejido adiposo blanco en respuesta al ayuno
Reduce los niveles plasmáticos de los triglicéridos
Disminuye la lipólisis estimulada por GH en los adipocitos
Metabolismo energético
Incrementa el gasto energético basal

El FGF-21 actúa también en el metabolismo del glucagón y viceversa (95). El FGF-21 suprime la producción de glucosa hepática, aumenta el glucógeno hepático y disminuye los niveles de glucagón. Por otro lado, la expresión hepática de PPAR- γ y FGF-21 está estimulada por la activación del receptor de glucagón hepático. El FGF-21 además mantiene la función de la célula β pancreática, aumentando su supervivencia.

El FGF-21 también interviene en la regulación del tejido adiposo corporal. La concentración de FGF-21 está significativamente aumentada en la obesidad, indicando un estado de resistencia. Además, el FGF-21 se correlaciona directamente con el IMC, la leptina, el nivel de triglicéridos, la insulina y el índice HOMA. También parece producir un aumento en el gasto energético basal (96,97).

Los niveles sanguíneos de FGF-21 se correlacionan independientemente con la función renal, y van aumentando progresivamente según aumenta el estadio de insuficiencia renal (98,99). También se correlaciona directamente con los marcadores inflamatorios (IL-6, PCR y el fibrinógeno).

HIPÓTESIS y OBJETIVOS

2.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1-HIPÓTESIS

El aumento de la mortalidad CV de los pacientes en diálisis no se explica completamente por los factores de riesgo “clásicos”, como la HTA, la DM o la dislipemia, por lo que en los últimos años han surgido numerosos factores “no clásicos” (como el estrés oxidativo, el daño endotelial, la grasa abdominal o algunas adipocitoquinas y factores hormonales) que podrían ayudar a explicarlo. El medio urémico contribuye a la inflamación sistémica, al estrés oxidativo, a la resistencia a la insulina y a la retención de las adipocitoquinas.

Nuestra hipótesis se basa en que diversos factores de riesgo no clásicos, podrían tener un efecto real sobre el desarrollo de enfermedad CV en los pacientes en diálisis y, en consecuencia, deberían ser tenidos en cuenta al valorar el riesgo global de morbilidad y mortalidad de estos pacientes. Entre estos factores estarían los productos avanzados de la oxidación proteica (AOPPs) como marcador de estrés oxidativo, el acúmulo de grasa, especialmente de localización abdominal, las alteraciones en la secreción y acción de adipocitoquinas, como hormonas reguladoras de la inflamación y el metabolismo y la resistencia a la insulina y el FGF-21 como hormona con importantes acciones metabólicas.

2.2.-OBJETIVOS

El objetivo general fue analizar, mediante diferentes estudios transversales y/o prospectivos realizados en pacientes en diálisis, nuevos factores de riesgo CV relacionados con la uremia y su posible relación con el aumento de morbi-mortalidad CV descrita en estos pacientes.

En primer lugar, con el proposito de seleccionar diferentes vías de estudio de interés, realizamos una revisión de las causas por las que los pacientes en diálisis tienen mayor grado de inflamación que la población general, y la influencia que la propia técnica dialítica pudiera ejercer, así como sus consecuencias sobre la supervivencia de estos pacientes. A este punto corresponde el capítulo 1 de la tesis.

Como objetivos específicos se consideraron:

1.- Estudiar el estrés oxidativo, estimado mediante la medición de los niveles plasmáticos de AOPPs y su relación con la enfermedad CV prevalente e incidente en pacientes en DP. Además, nos propusimos estudiar la relación de los mismos con la función renal residual, así como su variación a lo largo del seguimiento. A este objetivo se refiere el capítulo 2 de esta tesis.

2.- Comprobar si existe una variación de la grasa abdominal en los pacientes de hemodiálisis durante un periodo de seguimiento, estimado mediante diferentes técnicas de composición corporal (bioimpedancia (BIA) y absorciometría dual de rayos X (DXA)). Además, estudiamos las relaciones de

dichos cambios con las variaciones en los niveles plasmáticos de varias adipocitoquinas (leptina y adiponectina). También nos propusimos estudiar su posible relación con la incidencia de enfermedad CV y/o mortalidad CV en estos pacientes.

Finalmente, se compararon los datos obtenidos por BIA con los obtenidos mediante DXA (gold standard). A este objetivo sirven los capítulos 3 y 4 de la tesis.

3.- El tercer objetivo específico fue conocer los efectos de la sobrecarga peritoneal y hepática de glucosa, inducida por la DP sobre los parámetros de resistencia insulínica y su evolución a lo largo de un año de seguimiento en diálisis, así como su influencia sobre la aparición de eventos CV y mortalidad en un grupo de pacientes en DP no diabéticos.

Para completar el estudio del metabolismo de la glucosa y su relación con el transporte peritoneal, se analizó también la historia natural, acción y eliminación del FGF-21, como un factor compensador de la insulino-resistencia por un efecto similar a la insulina en los pacientes en DP. A este objetivo sirven los capítulos 5 y 6 de la tesis.

RESULTADOS

ARTÍCULO 1:

“Inflamación en diálisis”

“Inflamación en diálisis”

Juan Jesús Carrero, María Elena González

En: Lorenzo V, López Gómez JM (Eds) Nefrología al Día. 2012

Doi: 10.3265/Nefrologia.2010.pub1.ed80.chapter2911

<http://www.revistanefrologia.com/es-monografias-nefrologia-dia-articulo-inflamacion-dialisis-44>

Factor de impacto: 1,207

Este trabajo responde al objetivo general.

Revisión de las principales causas de los elevados niveles de inflamación presentes en los pacientes en diálisis (superiores a los de la población general), y la influencia que la propia técnica dialítica pudiera ejercer sobre los mismos, así como sus consecuencias sobre la supervivencia de estos pacientes.

Inflamación en diálisis

JUAN JESÚS CARRERO, MARÍA ELENA GONZÁLEZ

Division of Renal Medicine, Department of Clinical Sciences, Intervention and Technology.
Karolinska Institutet. Stockholm (Sweden)

INTRODUCCIÓN

El proceso inflamatorio debe entenderse como una respuesta sistémica compleja a agentes perniciosos. La inflamación es un mecanismo de defensa del organismo, que intenta eliminar ó combatir dicho agente/estímulo e iniciar el proceso curativo. Así, aunque inicialmente la producción de citoquinas pro-inflamatorias tiene un efecto beneficioso para el organismo, su elevación crónica y sostenida se traduce en efectos perjudiciales, y este es el cuadro que parece estar presente en la enfermedad renal crónica.

La inflamación crónica se caracteriza por la presencia persistente de estímulos pro-inflamatorios, lo que termina produciendo destrucción celular y tisular, con los consiguientes efectos deletéreos en el organismo. En el caso de la insuficiencia renal crónica y sobre todo en estadios avanzados y durante la diálisis, las concentraciones sistémicas tanto de citoquinas pro-inflamatorias como anti-inflamatorias se encuentran aumentadas. Las razones de esta elevación se deben tanto a la retención por descenso de la función renal como al aumento de su producción. En este capítulo estudiaremos las causas y consecuencias de la inflamación en la diálisis, las razones para su monitorización en la clínica y opciones terapéuticas disponibles para disminuir las concentraciones séricas de marcadores inflamatorios en enfermos renales.

CAUSAS DE INFLAMACIÓN EN LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

Aunque las causas relacionadas con la inflamación urémica no han sido totalmente dilucidadas, son muchos y variados los factores que se han relacionado con un aumento en la inflamación sistémica de estos pacientes. En primer lugar, no es quizás de extrañar que las infecciones concurrentes sean una de las principales causas de elevación de la proteína C reactiva (PCR) en los enfermos de diálisis [1]. Los agentes infecciosos estimulan la cascada de reacciones bioquímicas y biológicas que dan lugar a la respuesta inflamatoria. En concreto, microorganismos como *Chlamydia pneumoniae*, se han asociado con el estatus inflamatorio y la progresión de aterosclerosis en enfermos renales [2] [3] [4] [5]. Igualmente, episodios de infección dental como la periodontitis también se han asociado con la elevación de los marcadores de inflamación sistémica de los pacientes en hemodiálisis [6] [7]. Quizás no es desafortunado postular que la cavidad bucal constituye un potencial foco inflamatorio en la uremia.

La propia disminución de la función renal parece estar asociada con la inflamación, e incluso cambios mínimos en la función renal residual (FRR) parecen influir en dicha "inflamación urémica". De hecho, se ha demostrado que existe una fuerte relación entre la FRR, la inflamación sistémica y la hipertrofia de ventrículo izquierdo (HVI) en pacientes de diálisis [8]. La retención tanto de citoquinas [9], como de productos avanzados de glicosilación (AGEs) [10] y otras moléculas pro-oxidantes [11] contribuyen, en un círculo vicioso, a facilitar un entorno pro-inflamatorio a medida que la tasa de filtración glomerular disminuye. Otros factores que parecen contribuir a este círculo vicioso, son la hiperactividad simpática y/o la hipotonía del nervio vago [12].

Existen numerosos informes relacionando la técnica de diálisis (Vease **Técnicas de Hemodiálisis**) con la inflamación. La interacción de los monocitos circulantes con las membranas no-biocompatibles [13], el contacto de la sangre circulante con soluciones de diálisis no estériles [14], el uso de agua no ultrapura [15] [16] [17], el exceso de transporte convectivo, y la frecuencia y duración de la diálisis [18] [19], son factores contribuyentes al proceso inflamatorio. Sin embargo, no deben ser factores fundamentales en la iniciación de esta respuesta inflamatoria dado que los pacientes con ERC estadio 5, que aun no han iniciado tratamiento renal sustitutivo, ya presentan niveles muy elevados [20] [21]. La sobrehidratación, una complicación muy frecuente en la ERC, es otro causante del estado pro-inflamatorio al facilitar la translocación bacteriana en pacientes con edema intestinal severo [22]. Otra causa importante de inflamación en la población en diálisis son los pacientes portadores de injertos renales no funcionantes, que no han sido sometidos a transplantectomía tras su retorno a hemodiálisis [23].

En la población general, la obesidad se asocia a un aumento de la actividad inflamatoria, existiendo una estrecha relación entre las adipocitoquinas y las citoquinas pro-inflamatorias, así como entre la grasa y el tejido muscular. De igual manera, tanto el depósito de grasa troncular [24], como al abdominal [25], se han asociado con un incremento de la inflamación sistémica en los pacientes en diálisis, debido en parte a la capacidad de los adipocitos (y de los macrófagos que se infiltran la grasa), de secretar interleucina (IL)-6 ó Factor de Necrosis Tumoral (TNF)- α a la circulación sistémica [26] [27]. Mientras que la mayoría de las adipocitoquinas (como la leptina o visfatina) pueden tener efectos pro-inflamatorios, a la adiponectina se la han descrito propiedades anti-inflamatorias y sensibilizantes a la insulina [28] [29][30]. Dado el impacto que la pérdida de función renal tiene sobre el aclaramiento de las adipoquinas, las consecuencias patofisiológicas del desequilibrio de las mismas en ERC pueden ser mayores que en la población general.

CONSECUENCIAS DE LA INFLAMACIÓN EN LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

La naturaleza pleiotrópica de las citoquinas pro-inflamatorias afecta al desarrollo de diversas complicaciones concurrentes en la ERC, como el síndrome malnutrición-inflamación, la calcificación vascular o alteraciones en el sistema endocrino (**Figura 1**).

El *síndrome de malnutrición-inflamación (SMI)* es un complejo síndrome metabólico de carácter multifactorial, tanto en sus causas como en sus consecuencias. El SMI se caracteriza por la presencia concurrente de pérdida de masa muscular (asociada o no a anorexia), pérdida de peso y/o masa grasa [31] [32] [33]. Este síndrome no es exclusivo de la ERC sino que está presente en un amplio espectro de enfermedades en las que la inflamación crónica constituye un común denominador, como el VIH, la tuberculosis, la insuficiencia cardíaca, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, el cáncer o la sepsis. La presencia de sobrepeso no excluye la ocurrencia del SMI en la ERC, que puede estar presente no solo en pacientes con índice de masa corporal (IMC) reducido (2), sino también en pacientes con IMC normal o incluso elevado ($>25 \text{ kg/m}^2$) [34]. Entre los múltiples factores que pueden fomentar el SMI, la inflamación juega un papel fundamental: a medida que los niveles de IL-6 y TNF- α aumentan en los enfermos de diálisis, el apetito empeora [35] [36]. La masa muscular esta inversamente correlacionada tanto con la IL-6 como con la PCR en los pacientes en HD, incluso tras corregir por edad y sexo [8]. La activación de citoquinas durante la diálisis también se ha asociado con un aumento en el catabolismo proteico del músculo [37] [38]. Además, la visfatina se ha asociado al desarrollo de anorexia en estos pacientes [39]. Otros mecanismos adicionales por los que la inflamación puede inducir pérdida de masa muscular en los

pacientes con ERC son (Figura 1): el aumento de resistencia a la insulina, la activación de la vía de la ATP-ubiquitina proteolítica, el aumento del gasto calórico y la anorexia [31] [40].

La *calcificación vascular* puede también interpretarse, al menos en parte, como una consecuencia de la inflamación sistémica. De hecho, el TNF- α induce la mineralización de las células vasculares, y en estudios *in vitro* de co-cultivos de células vasculares con monocitos y/o macrófagos (fuente de la mayor parte de las citoquinas), se ha observado cómo dicha mineralización se ve acelerada [41]. Mediadores de la calcificación ósea y vascular como la osteoprotegerina y la fetuina-A se asocian al estatus inflamatorio de los enfermos en diálisis y predicen el riesgo de mortalidad únicamente en presencia de una inflamación sistémica de base [42] [43] [44] [45]. La osteoprotegerina aumenta la síntesis de moléculas de adhesión en el endotelio [46] y las citoquinas pro-inflamatorias inhiben los niveles circulantes de fetuina A en ERC [47] [48]. El depósito de cristales de fosfato cálcico en la íntima arterial (proceso *sine qua non* de la calcificación) interactúa con los macrófagos activados, induciendo un estado pro-inflamatorio mediante la vía de la proteína C quinasa y la MAP-quinasa [49]. Todo esto puede implicar que la inflamación sea causa y a la vez consecuencia de la calcificación vascular en un círculo vicioso.

El riñón es uno de los principales moduladores de la función endocrina y una importante diana para numerosas hormonas. Por ello, el estado urémico se asocia con alteraciones en la síntesis o funcionamiento de diversos *sistemas hormonales*. Este desequilibrio hormonal puede verse agravado por un estado de inflamación persistente. En la ERC existe una resistencia a la acción anabólica de la hormona de crecimiento (GH), afectando al desarrollo corporal en niños y a la pérdida de fuerza y masa muscular en adultos. Se ha demostrado que la resistencia a dosis farmacológicas de GH en enfermos en HD se debió al estatus inflamatorio más que a la uremia de por sí [50]. La inflamación persistente podría ser también una de las causas de síndrome de la triiodotironina (T3) baja y del hipotiroidismo subclínico, ambos cuadros clínicos tan frecuentes en los pacientes con ERC [51] [52]. Los niveles reducidos de T3 están fuertemente relacionados con marcadores sistémicos de inflamación y constituyen un predictor independiente de mortalidad, tanto en pacientes con ERC estadio 5 [52] como en pacientes en diálisis [53]. Por último, aproximadamente el 50% de los varones con ERCA presentan deficiencia de testosterona, que se encuentra íntimamente relacionada con la inflamación sistémica y se asocia a un aumento del riesgo de mortalidad [54].

INFLAMACIÓN Y MORTALIDAD

Estudios prospectivos en HD [21] [55] [56] [57] [58] [59], DP [60] [61] [62] y en pacientes trasplantados de riñón [63] demuestran que una simple medición de mediadores inflamatorios es capaz de predecir, de manera independiente, la mortalidad de los pacientes. Igualmente, resultados americanos de la base de datos MDRD sugieren que una PCR ≥ 3 mg/L en presencia de hipoalbuminemia también es un importante predictor de mortalidad en estadios iniciales de la ERC [64]. La inflamación sistémica es también un importante factor predictor de la muerte súbita en la ERCA [65]. Sin embargo, complicando este escenario aun más, debemos reconocer que existe una alta variabilidad intra e inter-individuo de los mediadores inflamatorios, sobre todo de los inespecíficos como es la PCR [66] [67]. Esta variabilidad parece aun mayor en los pacientes con ERC, debido a que factores urémicos y el estímulo intermitente de la diálisis influyen tanto en su producción como en su aclaramiento [68] [69] [70]. Mientras que la disminución de la función renal, la existencia de comorbilidades, el síndrome de malnutrición-inflamación y el propio entorno urémico (estrés oxidativo, acumulación de productos finales de la glucosilación avanzada, etc.) afectan a la variabilidad inter-

individual [70], la variación intra-individual se ve más influida por los diferentes eventos concurrentes (infecciones, complicaciones agudas, cirugías, etc.), el tipo de acceso vascular, las membranas bio-incompatibles, la retrofiltración, las endotoxinas y la diálisis intermitente [19] [71] [72] [73]. El estado de hidratación, influido por las diálisis intermitentes, la ingesta de líquidos y la FRR, también se asocia a este fenómeno [74]. Diversos estudios longitudinales (incluyendo varias medidas de marcadores inflamatorios en el tiempo) han demostrado que la mediana (y media) de los niveles de PCR en los pacientes de HD es mejor marcador pronóstico que un valor de PCR puntual [71] [75]. Esto sugiere que la monitorización frecuente de la respuesta inflamatoria en la clínica puede ser de utilidad para el seguimiento del paciente. Los pacientes con una elevación persistente de la PCR en un corto periodo de tiempo (3 meses) tienen un peor pronóstico, que aquellos que presentan valores persistentemente bajos o elevaciones puntuales [76].

MONITORIZACIÓN DE LA INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON ERC

A la hora de recomendar la monitorización de los niveles inflamatorios en enfermos de diálisis debemos reflexionar sobre por qué es necesario medir marcadores de inflamación a nivel clínico y si estas mediciones pueden mejorar el diagnóstico y pronóstico de nuestros pacientes. Dado que hasta la fecha no existen estudios randomizados con marcadores de inflamación como principal objetivo ni tampoco análisis de coste-efectividad, las siguientes recomendaciones para la monitorización de la inflamación en la ERC no están basadas en la evidencia y constituyen la opinión profesional de los autores.

Medidas de PCR y valores de referencia en la ERC

De todos los reactantes de fase aguda y marcadores de inflamación vascular del plasma, la PCR es el marcador de riesgo cardiovascular más utilizado, gracias a su reproducibilidad, bajo coste y disponibilidad en la clínica. La PCR es un sub-producto bioquímico inespecífico, producido por los hepatocitos como respuesta a niveles elevados de IL-6, que se eleva rápidamente tras un estímulo inflamatorio. Aunque hasta la fecha carecemos de valores de referencia de PCR para pacientes con ERC, sí parece claro que los niveles de PCR suelen, por lo general, estar por encima del límite de 3 mg/l de la población general. Los pacientes en diálisis en Europa suelen tener una PCR media de 7–8 mg/l y una mediana de 4–5 mg/l, algo menor que en EEUU [8] [77] [78] [79] [80] [81]. Hallazgos similares se han observado en pacientes con ERC en estadios 3-5. Según el estudio NHANES, alrededor del 50% de los pacientes con un aclaramiento renal entre 15-60 ml/min tienen unos niveles de PCR >2,1 mg/L. Los pacientes diabéticos generalmente tienen unas concentraciones séricas de PCR ligeramente mayores (media 10 mg/l) que los no diabéticos [82]. Con base en esta literatura precedente, diversos autores han sugerido un punto de corte pragmático para los niveles de PCR en los pacientes en diálisis en torno a los 5 mg/l. Sin embargo, este punto de corte no está consensuado por ninguna guía clínica y dadas las diferencias étnicas y culturales de muchos países, no es extrapolable a todas las poblaciones de diálisis.

Razones para medir PCR en la clínica

A nivel de la unidad de diálisis (monitorización de la inflamación a largo plazo), la monitorización mensual de PCR en los pacientes puede ayudar a controlar la presencia de contaminaciones en el agua o líquido de diálisis, control del estatus del acceso vascular, y optimización de los protocolos y dosis de diálisis. Desde un punto de vista preventivo, sin embargo, la monitorización de PCR no debe ser una alternativa sino un complemento más en el juicio clínico. Razones adicionales

para medir la PCR pueden ser el motivar al paciente a mejorar su estilo de vida o el cumplimiento de sus prescripciones médicas.

A nivel individual, la monitorización frecuente de la inflamación (monitorización a corto plazo) puede contribuir a identificar complicaciones subyacentes que requieran rápido tratamiento. En esta monitorización a corto plazo, los pacientes más interesantes son quizás aquellos que presentan una persistente de los niveles de PCR entre 5-50 mg/l. A estos pacientes, debería realizárseles un estudio clínico exhaustivo, independientemente de la existencia o no de sintomatología, para estudiar las posibles causas de dicha inflamación (sugeridas en Tabla 1). Asimismo, es recomendable una segunda determinación de la PCR dos semanas después del primer resultado para descartar procesos transitorios y reducir la variabilidad biológica de la PCR. Aquellos pacientes que presentan una rápida elevación de la PCR a valores > 50 mg/l, deberían ser estudiados en profundidad para detectar la existencia de quizás una infección activa o de procesos clínicos similares (cáncer o vasculitis).

OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA DISMINUIR LA INFLAMACIÓN EN LA ERC

Dado que hasta la fecha no existen estudios clínicos de intervención sobre el impacto que el descenso de la inflamación tiene sobre la prognosis de los pacientes, las recomendaciones que sugerimos a continuación son específicas de cada paciente y principalmente tratan de la identificación y tratamiento de las causas que desencadenan esa elevación de la respuesta inflamatoria.

Las opciones terapéuticas que actualmente existen para los enfermos de diálisis pueden clasificarse en 4 categorías (Figura 2):

1. Tratamiento de las comorbilidades preexistentes.
2. Evaluación de posibles causas pro-inflamatorias relacionadas con la diálisis.
3. Intervención nutricional y modificación de hábitos de vida.
4. Tratamiento farmacológico.

Evaluación de las comorbilidades existentes y de la técnica de diálisis

Antes de iniciar cualquier tratamiento farmacológico, es fundamental evaluar y tratar patologías concurrentes, incluidas las posibles complicaciones infecciosas, que pudiesen contribuir a la inflamación, alguna de las cuales hemos discutido con más detalle arriba. Por ejemplo, la sobrecarga de volumen puede producir una translocación bacteriana o de endotoxinas que active el sistema inmune y aumente la producción de citoquinas [83]. También es necesario considerar a la técnica de diálisis como un potencial foco de inflamación. Por ejemplo, los catéteres de diálisis pueden contribuir a incrementar la inflamación, independientemente que estén infectados o no [84], por lo que se debe evitar su uso siempre que sea posible. Aunque el supuesto potencial pro-inflamatorio de la HD y la DP nunca ha sido estudiado en un ensayo clínico aleatorizado, estudios observacionales han mostrado que, en comparación con la DP, un año de terapia de HD se asocia con una menor inflamación [85]. Los altos transportadores de diálisis peritoneal parecen estar más inflamados que los bajos transportadores [85] [86]. La heparina posee propiedades anti-inflamatorias y dado que un estudio sugirió que el uso intraperitoneal de heparina disminuye los niveles de PCR en los pacientes de DP [87], el potencial anti-inflamatorio de este tratamiento debería ser estudiado en más profundidad. La hemodiafiltración on-line disminuye los niveles de IL-6

más que la diálisis convencional, por lo que la modalidad de diálisis es también importante [88]. Por último, la diálisis corta diaria, comparada con la HD convencional, se asocia no solo a un mejor manejo del estado hídrico corporal y a una disminución de la HVI, sino también de los factores inflamatorios.

Intervención nutricional y de hábitos de vida

Mediante estas medidas inespecíficas podemos mejorar el estatus nutricional e inflamatorio de los pacientes. Por ejemplo, el ejercicio físico redujo la inflamación y mejoró el estado nutricional en pacientes con ERC estadio 3-4 [89]. Diversos estudios también sugieren que los *ácidos grasos omega-3* (conocidos como aceite de pescado) tienen un efecto beneficioso sobre la respuesta inflamatoria en HD [90]. Un estudio caso-control, randomizado, realizado en 70 pacientes en HD [91] mostró que la suplementación con gamma-tocoferol y ácido decosaheptaenoico disminuía la inflamación en estos pacientes. Otras posibilidades incluyen la suplementación nutricional con genisteína [92] (una isoflavona de la soja) y antocianinas [93].

Tratamiento farmacológico

Fármacos inespecíficos

Existen varios fármacos que poseen, además de su acción principal, propiedades inmunomoduladoras (efectos pleiotrópicos). Las *estatinas*, por ejemplo, han atraído considerable interés en los últimos años. En el estudio 4D, se observó un menor aumento de los niveles de PCR en los pacientes diabéticos en tratamiento con atorvastatina respecto al grupo tratado con placebo [94]. En el estudio AURORA, se observó un descenso, estadísticamente significativo en los niveles de PCR en el grupo de pacientes tratados con rosuvastatina [95]. El tratamiento con *colecalfiferol* fue capaz de reducir los niveles de citoquinas circulantes, incluidas la IL-8, IL-6 y el TNF [96]. En un estudio prospectivo con 158 pacientes en HD, se demostró que la suplementación con colecalfiferol no solo aumentaba los niveles séricos de 25(OH)D y 1,25(OH)(2)D, sino que también reducía los niveles de PCR [97]. El *Sevelamer* se asocia con un efecto pleiotrópico anti-inflamatorio: En un estudio controlado de 8 semanas se observó un aumento de la concentración sérica de fetuina-A, mejorando la disfunción endotelial y reduciendo los niveles de PCR en los pacientes con ERC estadio 4 [98]. La *pentoxifilina*, un inhibidor no específico de la fosfodiesterasa con propiedades anti-inflamatorias, no solo parece reducir la proteinuria sino también reducir la progresión de la insuficiencia renal [99].

Fármacos específicos

El uso de terapias anti-inflamatorias específicas (estrategias anti-citoquinas) está ganando mucho interés en el campo de enfermedades inflamatorias crónicas como la artritis reumatoide. Sin embargo, se ha especulado sobre posibles riesgos asociados a este tipo de terapias, ya que se basan en el bloqueo de sistemas fisiológicos que se supone son piezas claves en el sistema inmune. Así, por ejemplo, algunos estudios en enfermos no-renales han asociado uso de este tipo de terapias a un aumento de la incidencia de infecciones [100]. En los pacientes en HD, la seguridad y eficacia de los anti-TNF (en concreto, del *etanercept*) ha sido estudiada en dos trabajos. En el primero, tras tratar durante 3 meses a 6 pacientes en HD (con niveles normales de albumina y PCR) con 25 mg de etanercept subcutáneo 2 veces por semana durante tres meses, no se registraron efectos secundarios durante el seguimiento inicial, ni tampoco durante los 6 meses posteriores [101]. Además, se observó que la farmacocinética del fármaco era similar a la de los pacientes con función renal normal [101]. En el segundo trabajo, 10 pacientes en HD (con niveles elevados de albumina y PCR) fueron randomizados a tratamiento con etanercept o placebo durante más de 7 meses, tampoco registrándose efectos

adversos [102]. Otro estudio, también de diseño randomizado y controlado probó la eficacia de la administración de un antagonista recombinante del receptor de la IL-1 (anakinra) en la reducción de parámetros inflamatorios y mejora del estatus nutricional [103]. Un total de 14 pacientes (randomizados a placebo o anakinra durante 4 semanas) completaron el estudio, observando una reducción significativa de los niveles de PCR e IL-6 en el grupo tratado con anakinra. Fue interesante observar que los niveles de pre-albumina también mejoraron considerablemente en el grupo tratado. En conclusión, aunque la evidencia presente muestra efectos positivos a corto plazo, aun queda por estudiar la seguridad de estos tratamientos a largo plazo y su posible impacto en mejorar el pronóstico y supervivencia de los pacientes.

CONCLUSIONES

La inflamación sistémica es una característica clínica habitual en los pacientes en diálisis. Esta inflamación es multifactorial en su origen, relacionándose entre otros con la pérdida de la función renal, las comorbilidades o el procedimiento de la diálisis. Las consecuencias de la inflamación tocan a un amplio abanico de procesos patofisiológicos, como el síndrome malnutrición-inflamación, la calcificación vascular y disfunción endotelial, la resistencia a la insulina o la depresión. La PCR es el marcador inflamatorio más habitualmente utilizado a nivel clínico, y su monitorización frecuente puede ser un complemento importante en el seguimiento de los pacientes para el diagnóstico y tratamiento de cuadros patológicos subyacentes (como infecciones, uropatías, alteraciones cardiovasculares) o problemas con la técnica de diálisis (como contaminaciones de catéteres o de agua de dializado). Los primeros estudios randomizados controlados a corto plazo con terapias anticitoquina-específicas demuestran, hasta la fecha, la ausencia de efectos adversos y cierta efectividad en la reducción de la inflamación en los enfermos de diálisis.

Tablas

Tabla 1.

PCR 5-50 mg/l (elevación lenta o PCR persistentemente elevada):

- Injerto renal no funcionante
- Infección silente “encapsulada” de la FAV
- Uropatía obstructiva
- Émbolos de colesterol
- Enfermedad arterial periférica
- Isquemia cardiaca silente
- ICC
- Ulceras isquémicas, arteriales o venosas
- Enfermedad inflamatoria intestinal
- Inflamación periodontal
- Artritis
- Hepatitis
- Cirugía reciente

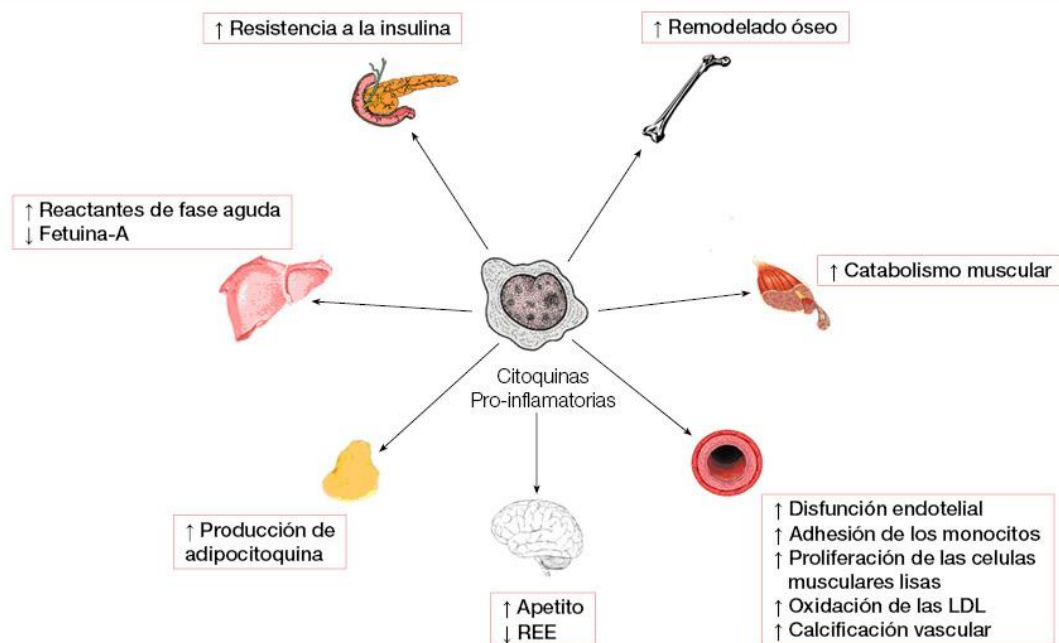
PCR > 50 mg/l (Infección aguda)

- Sepsis
- Endocarditis, discitis, osteomielitis.
- Vasculitis
- Cáncer (recaída o de novo)

Monitorización de la PCR

Imágenes

Figura 1.



Consecuencias de la inflamación en la enfermedad renal crónica

Figura 2.



Opciones terapéuticas para disminuir la inflamación en la ERC

Referencias Bibliográficas

1. Van Tellingen, A, Grooteman, MPC, Schoorl, M, Bartels, PCM, Schoorl, M, van der Ploeg, T, ter Wee, P, Nubé, MJ: Intercurrent clinical events are predictive of plasma C-reactive protein levels in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002; 62: 632-638. [\[Pubmed\]](#)
2. Stenvinkel, P, Heimbürger, O, Jogestrand, T: Elevated interleukin-6 predicts progressive carotid artery atherosclerosis in dialysis patients: association with Chlamydia pneumoniae seropositivity. *Am J Kidney Dis* 2002, 39: 274-282. [\[Pubmed\]](#)
3. Zoccali, C, Mallamaci, F, Tripepi, G, Parlongo, S, Cutrupi, S, Benedetto, FA, Bonanno, G, Seminara, G, Fatuzzo, P, Rapisarda, F, Malatino, LS: Chlamydia pneumoniae, overall and cardiovascular mortality in end-stage renal disease (ESRD). *Kidney Int* 2003, 64: 579-584. [\[Pubmed\]](#)
4. Kato, A, Takita, T, Furuhashi, M, Maruyama, Y, Hishida, A: Association between seroprevalence of anti-chlamydial antibodies and long-term cardiovascular mortality in chronic hemodialysis patients. *Atherosclerosis* 2006, 188: 120-125. [\[Pubmed\]](#)
5. Kim, DK, Kim, HJ, Han, SH, Lee, JE, Moon, SJ, Kim, BS, Kang, SW, Choi, KH, Lee, HY, Han, DS: Chlamydia pneumoniae accompanied by inflammation is associated with the progression of atherosclerosis in CAPD patients: a prospective study for 3 years. *Nephrol Dial Transplant* 2008, 23: 1011-1018. [\[Pubmed\]](#)
6. Chen, LP, Chiang, CK, Chan, CP, Hung, KY, Huang, CS: Does periodontitis reflect inflammation and malnutrition status in hemodialysis patients?. *Am J Kidney Dis* 2006, 47: 815-822. [\[Pubmed\]](#)
7. Buhlin, K, Barany, P, Heimbürger, O, Stenvinkel, P, Gustafsson, A: Oral health and pro-inflammatory status in end-stage renal disease patients. *Oral health & preventive dentistry* 2007, 5: 235-244. [\[Pubmed\]](#)
8. Wang, AY, Sea, MM, Tang, N, Sanderson, JE, Lui, SF, Li, PK, Woo, J: Resting energy expenditure and subsequent mortality risk in peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2004, 15: 3134-3143. [\[Pubmed\]](#)
9. Stenvinkel, P, Ketteler, M, Johnson, RJ, Lindholm, B, Pecoits-Filho, R, Riella, M, Heimbürger, O, Cederholm, T, Gimdt, M: IL-10, IL-6, and TNF-alpha: central factors in the altered cytokine network of uremia—the good, the bad, and the ugly. *Kidney Int* 2005, 67: 1216-1233. [\[Pubmed\]](#)
10. Suliman, M, Heimbürger, O, Barany, P, Anderstam, B, Pecoits-Filho, R, Ayala, ER, Fehrman, I, Lindholm, B, Stenvinkel, P: Plasma pentosidine is associated with inflammation and malnutrition in end-stage renal disease patients starting on dialysis therapy. *J Am Soc Nephrol* 2003, 14: 1614-1622. [\[Pubmed\]](#)
11. Dounousi, E, Papavasiliou, E, Makedou, A, Ioannou, K, Katopodis, KP, Tselepis, A, Siamopoulos, KC, Tsakiris, D: Oxidative stress is progressively enhanced with advancing stages of CKD. *Am J Kidney Dis* 2006, 48: 752-760. [\[Pubmed\]](#)
12. Borovikova, LV, Ivanova, S, Zhang, M, Yang, H, Botchkina, GI, Watkins, LR, Wang, H, Abumrad, N, Eaton, JW, Tracey, KJ: Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* 2000, 405: 458-462. [\[Pubmed\]](#)
13. Memoli, B, Minutolo, R, Bisesti, V, Postiglione, L, Conti, A, Marzano, L, Capuano, A, Andreucci, M, Balletta, MM, Guida, B, Tetta, C: Changes of serum albumin and C-reactive protein are related to changes of interleukin-6 release by peripheral blood mononuclear cells in hemodialysis patients treated with different membranes. *Am J Kidney Dis* 2002, 39: 266-273. [\[Pubmed\]](#)
14. Schindler, R, Beck, W, Deppisch, R, Aussieker, M, Wilde, A, Gohl, H, Frei, U: Short bacterial DNA fragments: detection in dialysate and induction of cytokines. *J Am Soc Nephrol* 2004, 15: 3207-3214. [\[Pubmed\]](#)
15. Arizono, K, Nomura, K, Motoyama, T, Matsushita, Y, Matsuoka, K, Miyazu, R, Takeshita, H, Fukui, H: Use of ultrapure dialysate in reduction of chronic inflammation during hemodialysis. *Blood Purif* 2004, 22 Suppl 2: 26-29. [\[Pubmed\]](#)
16. Schiffli, H, Lang, SM, Stratakis, D, Fischer, R: Effects of ultrapure dialysis fluid on nutritional status and inflammatory parameters. *Nephrol Dial Transplant* 2001, 16: 1863-1869. [\[Pubmed\]](#)
17. Bossola, M, Sanguinetti, M, Scribano, D, Zuppi, C, Giungi, S, Luciani, G, Torelli, R, Posteraro, B, Fadda, G, Tazza, L: Circulating bacterial-derived DNA fragments and markers of inflammation in chronic hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009, 4: 379-385. [\[Pubmed\]](#)
18. Ayus, JC, Mizani, MR, Achinger, SG, Thadhani, R, Go, AS, Lee, S: Effects of short daily versus conventional hemodialysis on left ventricular hypertrophy and inflammatory markers: a prospective, controlled study. *J Am Soc Nephrol* 2005, 16: 2778-2788. [\[Pubmed\]](#)
19. Panichi, V, Rizza, GM, Taccola, D, Paoletti, S, Mantuano, E, Migliori, M, Frangioni, S, Filippi, C, Carpi, A: C-reactive protein in patients on chronic hemodialysis with different techniques and different membranes. *Biomed Pharmacother* 2006, 60: 14-17. [\[Pubmed\]](#)

20. Barreto, DV, Barreto, FC, Liabeuf, S, Temmar, M, Lemke, HD, Tribouilloy, C, Choukroun, G, Vanholder, R, Massy, ZA: Plasma interleukin-6 is independently associated with mortality in both hemodialysis and pre-dialysis patients with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2010, 77: 550-556. [\[PubMed\]](#)
21. Stenvinkel, P, Heimbürger, O, Paultre, F, Diczfalusy, U, Wang, T, Berglund, L, Jogestrand, T: Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999, 55: 1899-1911. [\[PubMed\]](#)
22. Enia, G, Mallamaci, F, Benedetto, FA, Panuccio, V, Parlongo, S, Cutrupi, S, Giaccone, G, Cottini, E, Tripepi, G, Malatino, LS, Zocalli, C: Long-term CAPD patients are volume expanded and display more severe left ventricular hypertrophy than haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2001, 16: 1459-1464. [\[PubMed\]](#)
23. Lopez-gomez JM, Perez-flores I, Jofre R, Carretero D, Rodriguez-benitez P, Villaverde M, Perez-garcia R, Nassar G, Niembro E, Ayus JC. Presence of a Failed Kidney Transplant in Patients Who Are on Hemodialysis Is Associated with Chronic Inflammatory State and Erythropoietin Resistance. *J Am Soc Nephrol* 2004;15: 2494-2501. [\[PubMed\]](#)
24. Axelsson, J, Qureshi, AR, Suliman, ME, Honda, H, Pecoits-Filho, R, Heimbürger, O, Lindholm, B, Cederholm, T, Stenvinkel, P: Truncal fat mass as a contributor to inflammation in end-stage renal disease. *Am J Clin Nutr* 2004, 80: 1222-1229. [\[PubMed\]](#)
25. Cordeiro, AC, Qureshi, AR, Stenvinkel, P, Heimbürger, O, Axelsson, J, Barany, P, Lindholm, B, Carrero, JJ: Abdominal fat deposition is associated with increased inflammation, protein-energy wasting and worse outcome in patients undergoing haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2010, 25: 562-568. [\[PubMed\]](#)
26. Weisberg, SP, McCann, D, Desai, M, Rosenbaum, M, Leibel, RL, Ferrante, AW, Jr.: Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003, 112: 1796-1808. [\[PubMed\]](#)
27. Wellen, KE, Hotamisligil, GS: Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003, 112: 1785-1788. [\[PubMed\]](#)
28. Carrero, JJ, Cordeiro, AC, Lindholm, B, Stenvinkel, P: The emerging pleiotrophic role of adipokines in the uremic phenotype. *Current opinion in nephrology and hypertension* 2010, 19: 37-42. [\[PubMed\]](#)
29. Yamamoto, T, Carrero, JJ, Lindholm, B, Stenvinkel, P, Axelsson, J: Leptin and uremic protein-energy wasting—the axis of eating. *Semin Dial* 2009, 22: 387-390. [\[PubMed\]](#)
30. Maury, E, Brichard, SM: Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol* 2010, 314: 1-16. [\[PubMed\]](#)
31. Stenvinkel, P, Heimbürger, O, Lindholm, B: Wasting, but not malnutrition, predicts cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2004, 19: 2181-2183. [\[PubMed\]](#)
32. Avesani, CM, Carrero, JJ, Axelson, J, Qureshi, AR, Lindholm, B, Stenvinkel, P: Inflammation and wasting in chronic kidney disease: partners in crime. *Kidney Int* 2006, 70: 8-13. [\[PubMed\]](#)
33. Pupim, LB, Ikizler, TA: Uremic malnutrition: new insights into an old problem. *Seminars in dialysis* 2003, 16: 224-232. [\[PubMed\]](#)
34. Honda, H, Qureshi, AR, Axelsson, J, Heimbürger, O, Suliman, ME, Barany, P, Stenvinkel, P, Lindholm, B: Obese sarcopenia in patients with end-stage renal disease is associated with inflammation and increased mortality. *Am J Clin Nutr* 2007, 86: 633-638. [\[PubMed\]](#)
35. Carrero, JJ, Qureshi, AR, Axelsson, J, Avesani, CM, Suliman, ME, Kato, S, Barany, P, Snaedal-Jonsdottir, S, Alvestrand, A, Heimbürger, O, Lindholm, B, Stenvinkel, P: Comparison of nutritional and inflammatory markers in dialysis patients with reduced appetite. *Am J Clin Nutr* 2007, 85: 695-701. [\[PubMed\]](#)
36. Kalantar-Zadeh, K, Block, G, McAllister, CJ, Humphreys, MH, Kopple, JD: Appetite and inflammation, nutrition, anemia, and clinical outcome in hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr* 2004, 80: 299-307. [\[PubMed\]](#)
37. Raj, DS, Dominic, EA, Pai, A, Osman, F, Morgan, M, Pickett, G, Shah, VO, Ferrando, A, Moseley, P: Skeletal muscle, cytokines, and oxidative stress in end-stage renal disease. *Kidney Int* 2005, 68: 2338-2344. [\[PubMed\]](#)
38. Garibotto, G, Sofia, A, Procopio, V, Villaggio, B, Tarroni, A, Di Martino, M, Cappelli, V, Gandolfo, MT, Aloisi, F, De Cian, F, Sala, MR, Verzola, D: Peripheral tissue release of interleukin-6 in patients with chronic kidney diseases: effects of end-stage renal disease and microinflammatory state. *Kidney Int* 2006, 70: 384-390. [\[PubMed\]](#)
39. Carrero, JJ, Witasp, A, Stenvinkel, P, Qureshi, AR, Heimbürger, O, Barany, P, Suliman, ME, Anderstam, B, Lindholm, B, Nordfors, L, Schalling, M, Axelsson, J: Visfatin is increased in chronic kidney disease patients with poor appetite and correlates negatively with fasting serum amino acids and triglyceride levels. *Nephrol Dial Transplant* 2010, 25: 901-906. [\[PubMed\]](#)
40. Carrero, JJ, Aguilera, A, Stenvinkel, P, Gil, F, Selgas, R, Lindholm, B: Appetite disorders in uremia. *J Ren Nutr* 2008, 18: 107-113. [\[PubMed\]](#)

41. Tintut, Y, Patel, J, Territo, M, Saini, T, Parhami, F, Demer, LL: Monocyte/macrophage regulation of vascular calcification in vitro. *Circulation* 2002, 105: 650-655. [\[PubMed\]](#)
42. Morena, M, Terrier, N, Jaussent, I, Leray-Moragues, H, Chalabi, L, Rivory, JP, Maurice, F, Delcourt, C, Cristol, JP, Canaud, B, Dupuy, AM: Plasma osteoprotegerin is associated with mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2006, 17: 262-270. [\[PubMed\]](#)
43. Matsubara, K, Stenvinkel, P, Qureshi, AR, Carrero, JJ, Axelsson, J, Heimbürger, O, Barany, P, Alvestrand, A, Lindholm, B, Suliman, ME: Inflammation modifies the association of osteoprotegerin with mortality in chronic kidney disease. *Journal of nephrology* 2009, 22: 774-782. [\[PubMed\]](#)
44. Stenvinkel, P, Wang, K, Qureshi, AR, Axelsson, J, Pecoits-Filho, R, Gao, P, Barany, P, Lindholm, B, Jogestrand, T, Heimbürger, O, Holmes, C, Schalling, M, Nordfors, L: Low fetuin-A levels are associated with cardiovascular death: Impact of variations in the gene encoding fetuin. *Kidney Int* 2005, 67: 2383-2392. [\[PubMed\]](#)
45. Metry, G, Stenvinkel, P, Qureshi, AR, Carrero, JJ, Yilmaz, MI, Barany, P, Snaedal, S, Heimbürger, O, Lindholm, B, Suliman, ME: Low serum fetuin-A concentration predicts poor outcome only in the presence of inflammation in prevalent haemodialysis patients. *Eur J Clin Invest* 2008, 38: 804-811. [\[PubMed\]](#)
46. Mangan, SH, Campenhout, AV, Rush, C, Golledge, J: Osteoprotegerin upregulates endothelial cell adhesion molecule response to tumor necrosis factor-alpha associated with induction of angiopoietin-2. *Cardiovascular research* 2007, 76: 494-505. [\[PubMed\]](#)
47. Gangneux, C, Daveau, M, Hiron, M, Derambure, C, Papaconstantinou, J, Salier, JP: The inflammation-induced down-regulation of plasma Fetuin-A (alpha2HS-Glycoprotein) in liver results from the loss of interaction between long C/EBP isoforms at two neighbouring binding sites. *Nucleic acids research* 2003, 31: 5957-5970. [\[PubMed\]](#)
48. Moe, SM, Chen, NX: Inflammation and vascular calcification. *Blood Purif* 2005, 23: 64-71. [\[PubMed\]](#)
49. Nadra, I, Mason, JC, Philippidis, P, Florey, O, Smythe, CD, McCarthy, GM, Landis, RC, Haskard, DO. Proinflammatory activation of macrophages by basic calcium phosphate crystals via protein kinase C and MAP kinase pathways: a vicious cycle of inflammation and arterial calcification?. *Circ Res* 2005, 96: 1248-1256. [\[PubMed\]](#)
50. Garibotto, G, Russo, R, Sofia, A, Ferone, D, Fiorini, F, Cappelli, V, Tarroni, A, Gandolfo, MT, Vigo, E, Valli, A, Arvigo, M, Verzola, D, Ravera, G, Minuto, F: Effects of uremia and inflammation on growth hormone resistance in patients with chronic kidney diseases. *Kidney Int* 2008, 74: 937-945. [\[PubMed\]](#)
51. Zoccali, C, Tripepi, G, Cutrupi, S, Pizzini, P, Mallamaci, F: Low triiodothyronine: a new facet of inflammation in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2005, 16: 2789-2795. [\[PubMed\]](#)
52. Carrero, JJ, Qureshi, AR, Axelsson, J, Yilmaz, MI, Rehnmark, S, Witt, MR, Barany, P, Heimbürger, O, Suliman, ME, Alvestrand, A, Lindholm, B, Stenvinkel, P: Clinical and biochemical implications of low thyroid hormone levels (total and free forms) in euthyroid patients with chronic kidney disease. *J Intern Med* 2007, 262: 690-701. [\[PubMed\]](#)
53. Zoccali, C, Mallamaci, F, Tripepi, G, Cutrupi, S, Pizzini, P: Low triiodothyronine and survival in end-stage renal disease. *Kidney Int* 2006, 70: 523-528. [\[PubMed\]](#)
54. Carrero, JJ, Qureshi, AR, Parini, P, Arver, S, Lindholm, B, Barany, P, Heimbürger, O, Stenvinkel, P: Low serum testosterone increases mortality risk among male dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2009, 20: 613-620. [\[PubMed\]](#)
55. Yeun, JY, Levine, RA, Mantadilok, V, Kaysen, GA: C-reactive protein predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2000, 35(3): 469-476. [\[PubMed\]](#)
56. Zimmermann, J, Herrlinger, S, Pruy, A, Metzger, T, Wanner, C: Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999, 55: 648-658. [\[PubMed\]](#)
57. Iseki, K, Tozawa, M, Yoshi, S, Fukiyama, K. Serum C-reactive (CRP) and risk of death in chronic dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14: 1956-1960. [\[PubMed\]](#)
58. Bologa, RM, Levine, DM, Parker, TS, Cheigh, JS, Serur, D, Stenzel, KH, Rubin, AL: Interleukin-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia, and mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998, 32: 107-114. [\[PubMed\]](#)
59. Qureshi, AR, Alvestrand, A, Divino-Filho, JC, Gutierrez, A, Heimbürger, O, Lindholm, B, Bergstrom, J: Inflammation, malnutrition, and cardiac disease as predictors of mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2002, 13 Suppl 1: S28-36. [\[PubMed\]](#)
60. Noh, H, Lee, SW, Kang, SW, Shin, SK, Choi, KH, Lee, HY, Han, DS: Serum C-reactive protein: a predictor of mortality in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1998, 18 (4):387-394. [\[PubMed\]](#)
61. Ducloux, D, Bresson-Vautrin, C, Kribs, M, Abdelfatah, A, Chalopin, J-M: C-reactive protein and cardiovascular disease in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 2002, 62: 1417-1422. [\[PubMed\]](#)

62. Wang, A, Woo, J, Wai Kei, C, Wang, M, Man.Sei, M, Lui, S-F, Li, PK-T, Sanderson, JE: Is a single time-point C-reactive protein predictive of outcome in peritoneal dialysis patients?. *J Am Soc Nephrol* 2003, 14: 1871-1879. [\[Pubmed\]](#)
63. Varagunam, M, Finney, H, Trevitt, R, Sharples, E, McCloskey, DJ, Sinnott, PJ, Raftery, MJ, Yaqoob, MM: Pretransplantation levels of C-reactive protein predict all-cause and cardiovascular mortality, but not graft outcome, in kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 2004, 43: 502-507. [\[Pubmed\]](#)
64. Menon, V, Greene, T, Wang, X, Pereira, AA, Marcovina, SM, Beck, GJ, Kusek, JW, Collins, AJ, Levey, AS, Samak, MJ: C-reactive protein and albumin as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2005, 68: 766-772. [\[Pubmed\]](#)
65. Parekh, RS, Plantinga, LC, Kao, WH, Meoni, LA, Jaar, BG, Fink, NE, Powe, NR, Coresh, J, Klag, MJ: The association of sudden cardiac death with inflammation and other traditional risk factors. *Kidney Int* 2008, 74 (10):1335-1342 [\[Pubmed\]](#)
66. Macy, EM, Hayes, TE, Tracy, RP: Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin Chem* 1997, 43: 52-58. [\[Pubmed\]](#)
67. Ockene, IS, Matthews, CE, Rifai, N, Ridker, PM, Reed, G, Stanek, E: Variability and classification accuracy of serial high-sensitivity C-reactive protein measurements in healthy adults. *Clin Chem* 2001, 47: 444-450. [\[Pubmed\]](#)
68. Kaysen, GA, Dubin, JA, Muller, HG, Rosales, LM, Levin, NW: The acute-phase response varies with time and predicts serum albumin levels in hemodialysis patients. The HEMO Study Group. *Kidney Int* 2000, 58: 346-352. [\[Pubmed\]](#)
69. van Tellingen, A, Grooteman, MP, Schoorl, M, Bartels, PC, van der Ploeg, T, ter Wee, PM, Nube, MJ: Intercurrent clinical events are predictive of plasma C-reactive protein levels in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002, 62: 632-638. [\[Pubmed\]](#)
70. Landray, MJ, Wheeler, DC, Lip, GY, Newman, DJ, Blann, AD, McGlynn, FJ, Ball, S, Townend, JN, Baigent, C: Inflammation, endothelial dysfunction, and platelet activation in patients with chronic kidney disease: the chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) study. *Am J Kidney Dis* 2004, 43: 244-253. [\[Pubmed\]](#)
71. Snaedal, S, Heimbürger, O, Qureshi, AR, Danielsson, A, Wikström, B, Fellström, B, Fehrman-Ekholm, I, Carrero, JJ, Alvestrand, A, Stenvinkel, P, Barany, P: Comorbidity and acute clinical events as determinants of C-reactive protein variation in hemodialysis patients: implications for patient survival. *Am J Kidney Dis* 2009, 53: 1024-1033. [\[Pubmed\]](#)
72. Stigant, CE, Djurdjev, O, Levin, A: C-reactive protein levels in patients on maintenance hemodialysis: reliability and reflection on the utility of single measurements. *Int Urol Nephrol* 2005, 37: 133-140. [\[Pubmed\]](#)
73. Korevaar, JC, van Manen, JG, Dekker, FW, de Waart, DR, Boeschoten, EW, Krediet, RT: Effect of an increase in C-reactive protein level during a hemodialysis session on mortality. *J Am Soc Nephrol* 2004, 15: 2916-2922. [\[Pubmed\]](#)
74. Ortega, O, Rodriguez, I, Gracia, C, Sanchez, M, Lentisco, C, Mon, C, Gallar, P, Ortiz, M, Herrero, JC, Oliet, A, Vigil, A: Strict volume control and longitudinal changes in cardiac biomarker levels in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 2009, 113: c96-103. [\[Pubmed\]](#)
75. Rao, M, Guo, D, Perianayagam, MC, Tighiouart, H, Jaber, BL, Pereira, BJ, Balakrishnan, VS: Plasma interleukin-6 predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005, 45: 324-333. [\[Pubmed\]](#)
76. Meuwese, CL, Snaedal, S, Halbesma, N, Stenvinkel, P, Dekker, FW, Qureshi, AR, Barany, P, Heimbürger, O, Lindholm, B, Krediet, RT, Boeschoten, EW, Carrero, JJ: Trimestral variations of C-reactive protein, interleukin-6 and tumour necrosis factor- α are similarly associated with survival in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2011, 26: 1313-1318. [\[Pubmed\]](#)
77. Nascimento, MM, Pecoits-Filho, R, Qureshi, AR, Hayashi, SY, Manfro, RC, Pachaly, MA, Renner, L, Stenvinkel, P, Lindholm, B, Riella, MC: The prognostic impact of fluctuating levels of C-reactive protein in Brazilian haemodialysis patients: a prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 2004, 19: 2803-2809. [\[Pubmed\]](#)
78. Stenvinkel, P, Wanner, C, Metzger, T, Heimbürger, O, Mallamaci, F, Tripepi, G, Malatino, L, Zoccali, C: Inflammation and outcome in end-stage renal failure: does female gender constitute a survival advantage?. *Kidney Int* 2002, 62: 1791-1798. [\[Pubmed\]](#)
79. Kaizu, Y, Ohkawa, S, Odamaki, M, Ikegaya, N, Hibi, I, Miyaji, K, Kumagai, H: Association between inflammatory mediators and muscle mass in long-term hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2003, 42: 295-302. [\[Pubmed\]](#)
80. Muntner, P, Hamm, LL, Kusek, JW, Chen, J, Whelton, PK, He, J: The prevalence of nontraditional risk factors for coronary heart disease in patients with chronic kidney disease. *Annals of internal medicine* 2004, 140: 9-17. [\[Pubmed\]](#)

- 81.** Avesani, CM, Draibe, SA, Kamimura, MA, Colugnati, FA, Cuppari, L: Resting energy expenditure of chronic kidney disease patients: influence of renal function and subclinical inflammation. *Am J Kidney Dis* 2004, 44: 1008-1016. [\[PubMed\]](#)
- 82.** Wanner, C, Krane, V, Marz, W, Olschewski, M, Mann, JF, Ruf, G, Ritz, E: Atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis. *The New England journal of medicine* 2005, 353: 238-248. [\[PubMed\]](#)
- 83.** Niebauer, J, Volk, HD, Kemp, M, Dominguez, M, Schumann, RR, Rauchhaus, M, Poole-Wilson, PA, Coats, AJ, Anker, SD: Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet* 1999, 353: 1838-1842. [\[PubMed\]](#)
- 84.** Goldstein, SL, Ikizler, TA, Zappitelli, M, Silverstein, DM, Ayus, JC: Non-infected hemodialysis catheters are associated with increased inflammation compared to arteriovenous fistulas. *Kidney Int* 2009, 76: 1063-1069. [\[PubMed\]](#)
- 85.** Carrero, JJ, Axelsson, J, Avesani, CM, Heimbürger, O, Lindholm, B, Stenvinkel, P: Being an inflamed peritoneal dialysis patient - a Dante's journey. *Contributions to nephrology* 2006, 150: 144-151. [\[PubMed\]](#)
- 86.** Cordeiro, AC, Carrero, JJ, Abensur, H, Lindholm, B, Stenvinkel, P: Systemic and local inflammation in peritoneal dialysis: mechanisms, biomarkers and effects on outcome. *Contributions to nephrology* 2009, 163: 132-139. [\[PubMed\]](#)
- 87.** Sjoland, JA, Pedersen, RS, Jespersen, J, Gram, J: Intraperitoneal heparin ameliorates the systemic inflammatory response in PD patients. *Nephron Clin Pract* 2005, 100: c105-110. [\[PubMed\]](#)
- 88.** Panichi, V, Rizza, GM, Paoletti, S, Bigazzi, R, Aloisi, M, Barsotti, G, Rindi, P, Donati, G, Antonelli, A, Panicucci, E, Tripepi, G, Tetta, C, Palla, R: Chronic inflammation and mortality in haemodialysis: effect of different renal replacement therapies. Results from the RISCAVID study. *Nephrol Dial Transplant* 2008, 23: 2337-2343. [\[PubMed\]](#)
- 89.** Castaneda, C, Gordon, PL, Parker, RC, Uhlin, KL, Roubenoff, R, Levey, AS: Resistance training to reduce the malnutrition-inflammation complex syndrome of chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2004, 43: 607-616. [\[PubMed\]](#)
- 90.** Friedman, A, Moe, S: Review of the effects of omega-3 supplementation in dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006, 1: 182-192. [\[PubMed\]](#)
- 91.** Himmelfarb, J, Phinney, S, Ikizler, TA, Kane, J, McMonagle, E, Miller, G: Gamma-tocopherol and docosahexaenoic acid decrease inflammation in dialysis patients. *J Ren Nutr* 2007, 17: 296-304. [\[PubMed\]](#)
- 92.** Fanti, P, Asmis, R, Stephenson, TJ, Sawaya, BP, Franke, AA: Positive effect of dietary soy in ESRD patients with systemic inflammation--correlation between blood levels of the soy isoflavones and the acute-phase reactants. *Nephrol Dial Transplant* 2006, 21: 2239-2246. [\[PubMed\]](#)
- 93.** Carrero, JJ, Yilmaz, MI, Lindholm, B, Stenvinkel, P: Cytokine dysregulation in chronic kidney disease: how can we treat it?. *Blood Purif* 2008; 26: 291-299. [\[PubMed\]](#)
- 94.** Krane, V, Winkler, K, Drechsler, C, Lilienthal, J, Marz, W, Wanner, C: Effect of atorvastatin on inflammation and outcome in patients with type 2 diabetes mellitus on hemodialysis. *Kidney Int* 2008, 74: 1461-1467. [\[PubMed\]](#)
- 95.** Fellstrom, BC, Jardine, AG, Schmieder, RE, Holdaas, H, Bannister, K, Beutler, J, Chae, DW, Chevaile, A, Cobbe, SM, Gronhagen-Riska, C, De Lima, JJ, Lins, R, Mayer, G, McMahon, AW, Parving, HH, Remuzzi, G, Samuelsson, O, Sonkodi, S, Sci, D, Suleymanlar, G, Tsakiris, D, Tesar, V, Todorov, V, Wiecek, A, Wuthrich, RP, Gottlow, M, Johnsson, E, Zannad, F: Rosuvastatin and cardiovascular events in patients undergoing hemodialysis. *The New England journal of medicine* 2009, 360: 1395-1407. [\[PubMed\]](#)
- 96.** Stubbs, JR, Idiculla, A, Slusser, J, Menard, R, Quarles, LD: Cholecalciferol supplementation alters calcitriol-responsive monocyte proteins and decreases inflammatory cytokines in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 353-361. [\[PubMed\]](#)
- 97.** Matias, PJ, Jorge, C, Ferreira, C, Borges, M, Aires, I, Amaral, T, Gil, C, Cortez, J, Ferreira, A. Cholecalciferol Supplementation in Hemodialysis Patients: Effects on Mineral Metabolism, Inflammation, and Cardiac Dimension Parameters. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010, 5 (5):905-911 [\[PubMed\]](#)
- 98.** Caglar, K, Yilmaz, MI, Saglam, M, Cakir, E, Acikel, C, Eyileten, T, Yenicesu, M, Oguz, Y, Vural, A, Carrero, JJ, Axelsson, J, Lindholm, B, Stenvinkel, P: Short-term treatment with sevelamer increases serum fetuin-a concentration and improves endothelial dysfunction in chronic kidney disease stage 4 patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008, 3: 61-68. [\[PubMed\]](#)
- 99.** Perkins, RM, Aboudara, MC, Uy, AL, Olson, SW, Cushner, HM, Yuan, CM: Effect of pentoxifylline on GFR decline in CKD: a pilot, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Kidney Dis* 2009, 53: 606-616. [\[PubMed\]](#)

- 100.** Scheinecker, C, Redlich, K, Smolen, JS: Cytokines as therapeutic targets: advances and limitations. *Immunity* 2008, 28: 440-444. [\[Pubmed\]](#)
- 101.** Don, BR, Spin, G, Nestorov, I, Hutmacher, M, Rose, A, Kaysen, GA: The pharmacokinetics of etanercept in patients with end-stage renal disease on haemodialysis. *J Pharm Pharmacol* 2005, 57: 1407-1413. [\[Pubmed\]](#)
- 102.** Don, BR, Kim, K, Li, J, Dwyer, T, Alexander, F, Kaysen, GA: The effect of etanercept on suppression of the systemic inflammatory response in chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2010, 73: 431-438. [\[Pubmed\]](#)
- 103.** Hung, AM, Ellis, CD, Shintani, A, Booker, C, Ikizler, TA: IL-1beta receptor antagonist reduces inflammation in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2011, 22: 437-442. [\[Pubmed\]](#)

ARTÍCULO 2 .-

“ An increase of plasma advanced oxidation protein products (AOPPs) levels is associated with cardiovascular risk in incident peritoneal dialysis patients. A pilot study”.

“An increase of plasma advanced oxidation protein products (AOPPs) levels is associated with cardiovascular risk in incident peritoneal dialysis patients. A pilot study”

Elena Gonzalez, Maria-Auxiliadora Bajo, Juan J. Carrero, Bengt Lindholm, Cristina Grande, Rafael Sánchez-Villanueva, Gloria Del Peso, Mariana Díaz-Almirón, Pedro Iglesias, Juan J. Díez and Rafael Selgas.

Oxidative Medicine and Cellular Longevity. vol. 2015, Article ID 219569, 6 pages, 2015.

Factor de impacto: 4,492

Este trabajo responde al objetivo 1

INTRODUCCIÓN

La enfermedad CV es la principal causa de morbi-mortalidad en los pacientes con ERC. El estrés oxidativo se define como el daño tisular resultante del desequilibrio entre la excesiva generación de compuestos pro-oxidantes y la deficiencia de los mecanismos anti-oxidantes, lo que probablemente contribuye a la disfunción endotelial y a la aterosclerosis y, por tanto, a las complicaciones CV. Witko y cols. (34) describieron que, debido al daño oxidativo, las proteínas pueden modificar sus características espectroscópicas, denominándose AOPPs a los productos resultantes. El estrés oxidativo causa un importante daño a las estructuras biológicas y podrían ser considerados verdaderos mediadores pro-inflamatorios del efecto del estrés oxidativo en la uremia. Además, la pérdida de la función renal se asocia a un incremento en el nivel plasmático de los AOPPs. El aumento del estrés oxidativo asociado a la DP, y estimado mediante la variación de los niveles plasmáticos de los AOPPs, podría asociarse con el desarrollo de enfermedad CV y el pronóstico de los pacientes de DP.

OBJETIVOS

El objetivo de este estudio piloto fue evaluar la asociación dinámica entre los niveles de AOPPs con los antecedentes CV y con la mortalidad en una cohorte de pacientes incidentes en DP.

Un objetivo secundario de este estudio fue explorar la variación biológica de los niveles plasmáticos de AOPPs en un año en esta población de alto riesgo y estudiar la posible influencia de la función renal y peritoneal sobre los mismos.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se estudiaron los niveles plasmáticos de AOPPs en 48 pacientes incidentes en DP, entre los años 2000 y 2009, en la Unidad de Diálisis Peritoneal del Hospital Universitario La Paz. Todos los pacientes permanecieron un mínimo de un año en la técnica y accedieron, previa firma de un consentimiento informado, a la recogida seriada de muestras de sangre con fines de investigación clínica, coincidentes con sus revisiones clínicas habituales. Las muestras fueron almacenadas en la seroteca del servicio de Nefrología.

Se seleccionaron dos muestras plasmáticas de cada paciente (basal y al año de seguimiento). Los datos de los pacientes fueron recogidos de la historia clínica: datos demográficos (edad, peso, sexo, etc.), antecedentes CV, datos analíticos (glucosa, albúmina e insulina), función renal residual y adecuación de DP.

Los AOPPs fueron cuantificados mediante espectrofotometría por el método modificado de Witko-Sarsat (100).

RESULTADOS

La variación de los niveles plasmáticos de los AOPPs en el primer año en DP se asoció de forma estadísticamente significativa con los antecedentes de enfermedad CV así como con el riesgo de padecer un nuevo evento CV. En aquellos pacientes en los que los niveles se incrementaron más de un 50% por encima del basal, encontramos una asociación significativa tanto con el antecedente de enfermedad CV como con el desarrollo de un nuevo evento; estos pacientes tienen 4,7 veces más riesgo de desarrollar en el futuro una nueva enfermedad CV que los pacientes con un aumento menor del 50% de sus niveles, incluso una vez ajustado por los antecedentes CV. La asociación entre los niveles plasmáticos de AOPPs y la FRR no fue estadísticamente significativa.

CONCLUSIONES

Nuestros datos sugieren que el aumento de los niveles plasmáticos de AOPPs durante el primer año en DP está condicionado por los antecedentes CV de los pacientes y además, son capaces de predecir, de forma independiente, el pronóstico CV. Un incremento superior al 50% de los niveles basales se asocia de forma independiente con la incidencia de nuevos episodios CV. Los niveles plasmáticos de AOPPs parecen identificar el estado de riesgo CV en los pacientes en DP con suficiente sensibilidad como para poder identificar a aquellos con un mayor riesgo en la práctica clínica.

Research Article

An Increase of Plasma Advanced Oxidation Protein Products Levels Is Associated with Cardiovascular Risk in Incident Peritoneal Dialysis Patients: A Pilot Study

Elena Gonzalez,¹ Maria-Auxiliadora Bajo,¹ Juan J. Carrero,² Bengt Lindholm,² Cristina Grande,³ Rafael Sánchez-Villanueva,¹ Gloria Del Peso,¹ Mariana Díaz-Almirón,⁴ Pedro Iglesias,⁵ Juan J. Díez,⁵ and Rafael Selgas¹

¹Department of Nephrology, Hospital Universitario La Paz, IdiPAZ, Spain

²Renal Medicine and Baxter Novum, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

³Department of Biochemistry, Hospital Universitario La Paz, IdiPAZ, Spain

⁴Section of Biostatistics, Hospital Universitario La Paz, IdiPAZ, Spain

⁵Department of Endocrinology, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Spain

Correspondence should be addressed to Maria-Auxiliadora Bajo; mauxiliadora.bajo@salud.madrid.org

Received 4 April 2015; Revised 27 May 2015; Accepted 28 May 2015

Academic Editor: Claudio Cabello-Verrugio

Copyright © 2015 Elena Gonzalez et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Advanced oxidation protein products (AOPPs) are considered as markers and even mediators of the proinflammatory effect of oxidative stress in uremia. We hypothesized that an increase of oxidative stress associated with peritoneal dialysis (PD), estimated by the variation of plasma AOPPs over time, might be associated with cardiovascular (CV) risk and overall prognosis. In 48 PD patients, blood samples were collected on two occasions: the first one in the first six months after starting PD therapy and the second one, one year after. The plasma AOPPs level variation over the first year on PD was significantly associated with CV antecedents and also with CV prognosis. In those patients in whom the AOPPs levels increased more than 50% above the baseline value, a significant association with past and future CV disease was confirmed. These patients had 4.7 times greater risk of suffering later CV disease than those with a smaller increase, even after adjusting for previous CV history. Our data suggest that the increase of AOPPs plasma level over the first year on PD is conditioned by CV antecedents but also independently predicts CV prognosis. AOPPs plasma levels seem to represent the CV status of PD patients with sufficient sensitivity to identify those with a clearly sustained higher CV risk.

1. Introduction

Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of morbidity and mortality in end-stage renal disease patients [1]. Besides the traditional risk factors for CV events such as hypertension, diabetes mellitus, and hyperlipidemia, “non-traditional” factors, such as oxidative stress, abdominal fat deposition, and endothelial dysfunction, have also been proposed [2, 3]. Oxidative stress, defined as the tissue damage resulting from an imbalance between an excessive generation of oxidant compounds and insufficient antioxidant defense mechanisms, probably contributes to endothelial dysfunction and atherosclerosis and, therefore, CV complications [4].

Witko-Sarsat et al. [5] found that, due to the oxidative damage, proteins can modify their spectroscopic characteristics. These altered proteins, named advanced oxidation protein products (AOPPs), have a molecular weight of 600 kDa and are highly elevated in hemodialysis (HD) patients. The same authors demonstrated that AOPPs act to trigger the oxidative burst and the synthesis of inflammatory cytokines in neutrophils and monocytes [6]. Since glycation-modified proteins also induced protein cross-linking and are elevated in uremic patients, AOPPs and advanced glycation end products (AGEs) are highly correlated [6].

Oxidative stress causes damage to important biological structures and may enhance the inflammatory response. New

compounds, such as AOPPs, but also AGEs and advanced lipoperoxidation end products (ALEs) may constitute a new molecular basis for the deleterious activity of oxidants, and they could be considered to be true mediators of the proinflammatory effect of oxidative stress in uremia [7, 8].

Moreover, these authors have also evaluated the relationships between plasma AOPPs and markers of monocyte activation in uremia and demonstrated a high correlation between AOPPs and renal creatinine clearance and inflammatory cytokine levels such as tumor necrosis factor alpha (TNF- α) [5, 9–12].

Residual renal function (RRF) affects the survival rate and the development of CVD in peritoneal dialysis (PD) patients. In incident PD patients, lower RRF has also been associated with increased inflammation. Loss of RRF is associated with increased AOPP and AGEs plasma levels, suggesting that preservation of RRF has a beneficial effect on reducing the oxidative stress in PD patients [11].

Endothelial dysfunction is an early initiating event in atherosclerosis and a risk factor for future CV events. Oxidative stress and uremia-related CV risk factors probably play a role in the pathogenesis of endothelial dysfunction [11, 12]. In a previous article [13], our group demonstrated that peritoneal protein clearance (PrC) and 24 h effluent peritoneal protein losses (PPL) on initiating PD are directly and independently related to peripheral arterial disease (PAD), as an expression of the highest CV disease grade. A greater rate of peritoneal transported protein might be the result of peritoneal endothelial dysfunction, reflecting systemic endothelium damage.

We hypothesized that an increase of oxidative stress associated with PD and estimated by AOPPs plasma level variation over time might be associated with CV risk factors development and overall PD patient prognosis.

Therefore, our primary objective was to evaluate, in this pilot study, the association of dynamic plasma AOPPs levels with CV background and outcome in a cohort of incident PD patients. Our secondary objective was to explore the biological variation of AOPPs plasma levels throughout a year in this high risk population and to study the influence of renal and peritoneal functions on this variation.

2. Patients and Methods

2.1. Patients. We studied 48 patients who remained at least one year in the PD program of the Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain. Patients comprised 37 men and 11 women. Their mean age was 54.0 ± 15.9 years and at baseline mean duration of preceding time on PD at inclusion was 6 months. There were 11 (22.9%) patients with diabetes, 42 (87.5%) with hypertension, and 27 (56.3%) with previous CVD. Plasma samples were obtained from each patient on two occasions: the first one in the first six months after starting the PD therapy (period between 2000 and 2009) and the second one, one year after. The following information was collected from patient records: demographic data (including age, sex, height, weight, and body mass index); prevalence

of CV risk factors (hypertension, diabetes mellitus, hyperlipidemia, CV disease at the beginning of dialysis, smoking habits, and secondary hyperparathyroidism); laboratory tests (blood glucose levels, serum levels of cholesterol, albumin, triglycerides, albumin, and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP)); and PD-related parameters: type of dialysis (continuous peritoneal ambulatory dialysis (CAPD) or automated peritoneal dialysis (APD)), RRF, and urea (U-MTAC) and creatinine (Cr-MTAC) mass transfer area coefficients. All patients gave their consent to give blood samples in order to participate in the study.

Patients were followed up until death or end of follow-up (January, 2014). Causes of deaths and CV events were determined by clinicians based on clinical presentation and examination of patients. CV events included electrocardiographically documented angina, myocardial infarction, heart failure, atrial fibrillation, stroke, and peripheral vascular disease.

2.2. Methods. AOPPs classic determination was based on spectrophotometric detection according to Witko-Sarsat et al. [5]. In order to minimize the impact of storage time and the influence of triglyceride, we decided to use the modified AOPP assay developed by Anderstam et al. [14]. The modified AOPP assay included, in addition to the Witko original AOPP methodology, a sample preparation procedure to precipitate lipoproteins (very low density lipoproteins (VLDL) and low density lipoprotein (LDL)) in the plasma (Konelab HDL-cholesterol precipitating reagent, Thermo Electron Corporation, Vantaa, Finland). This reagent is normally used as a preparation step before determination of HDL-cholesterol on Konelab analyzers. Fifty μL of reconstituted precipitating reagent (dextran sulphate and magnesium ions) was mixed with 500 μL of EDTA plasma, centrifuged at $1000 \times g$ for 20 min, upon which the supernatant was carefully removed. AOPPs were immediately measured in the supernatant at 340 nm on a microplate spectrophotometer under acidic conditions and expressed as chloramine-T equivalents ($\mu\text{mol/L}$). Glomerular filtration rate (GFR) was expressed calculating the mean between creatinine and urea kidney clearances. Peritoneal protein clearance was assumed to be peritoneal albumin clearance as almost all protein in peritoneal effluent is albumin (the plasma measurement for the calculation was albumin).

All patients were subjected to a baseline peritoneal kinetic study (within 4 weeks after the start of dialysis) and one year after. This study was performed using a standard protocol of four-hour dwell period with 3.86% glucose concentration 2 L volume exchange. During the peritoneal function study, the patients fasted and were given no medication except for low doses of subcutaneous insulin as necessary. To measure the diffusive capacity, six samples of the peritoneal effluent were collected (at time 0, 30, 60, 120, 180, and 240 minutes) and a blood sample was also taken. Based on these determinations, D/P Cr was calculated as described by Twardoski et al. [15], and mass transfer coefficients of urea (urea-MTAC) and creatinine (cr-MTAC) were calculated based on a mathematical model described previously by our group [16].

TABLE 1: Clinical and biochemistry values and kidney and peritoneal function parameters in 48 PD patients at inclusion and at one year after starting PD.

	PD patients (n = 48)	
	Baseline	One year after
BMI, kg/m ²	25 ± 3.3	25.4 ± 3.2
Cholesterol, mg/dL	175 (149–199)	164 (145–187)
Triglycerides, mg/dL	121 (97–188)	107 (85–123)
Albumin, g/dL	3.7 ± 0.4	3.7 ± 0.4
hs-CRP, mg/L	1.5 (0.7–4.7)	1.9 (0.7–3.2)
AOPPs, μmol/L	76.6 (61.4–92.3)	95.2 (75.3–126.3)
Residual diuresis, mL/24 h	1713 ± 1125	1302 ± 945
Residual GFR, mL/min/1.73 m ²	5.9 ± 3.6	4.3 ± 3.4
Creatinine MTAC, mL/min	8.7 ± 2.7	8.7 ± 4.3
Urea MTAC, mL/min	22.4 ± 4.5	22 ± 6.9
Ultrafiltration, mL/4 h (dwell time 3.86% glucose)	708 ± 241	693 ± 265
Peritoneal protein clearance, mL/day	4.7 ± 3.5	4.9 ± 3.8

Values are presented as mean ± SD for normally distributed variables, or median (interquartile range) for nonnormal data.

BMI: body mass index; hs-CRP: high-sensitivity C-reactive protein; AOPPs: advanced oxidative protein products; GFR: glomerular filtration rate; MTAC: mass transport area coefficient.

2.3. Statistical Analysis. Results are expressed as mean ± standard deviation (SD) for normally distributed continuous variables, or median (interquartile (IQ) range) for nonnormal data, or percentage of total, as appropriate, for categorical variables. Participant data were compared by using a chi-square test, Fisher test, Student's *t*-test, Wilcoxon signed-rank test, or Mann-Whitney *U*-test, as appropriate. Spearman correlation analysis was used to examine the significance of associations between variables. Two-tailed 95% confidence intervals (CI) and *p* values are presented with *p* < 0.05 regarded as significant. All statistical analyses were performed using statistical software SPSS for Windows, version 15.0 (Chicago, SPSS Inc., USA).

3. Results

We studied 37 men and 11 women. Mean age was 54.0 ± 15.9 years and mean duration of preceding time on PD at inclusion was 6 months. There were 11 (22.9%) patients with diabetes, 42 (87.5%) with hypertension, and 27 (56.3%) with previous CVD. The main clinical, analytical data and kidney and PD function parameters throughout the study period are reported in Table 1.

In univariate analysis, plasma AOPPs levels were neither associated with demographic, clinical, or kidney variables nor associated with peritoneal function parameters. Baseline AOPPs levels were positively correlated (Spearman Rho 0.69, *p* < 0.01) with AOPPs levels at 1 year.

Mean time of follow-up after the second AOPPs determination was 71.4 ± 38 months (median 67 [5–151 months]). During that period, 28 patients (58.3%) had undergone renal transplantation, 9 (18.8%) had been transferred to hemodialysis, and 9 (18.8%) had died during PD therapy. Thirteen patients died during the total follow-up (*census date*: January, 2014); CV disease was the most common cause (7 patients), followed by infection (4 patients). In the univariate

Cox proportional hazards model, age, presence of diabetes or CV disease, serum albumin concentration, CRP level, PD modality, peritoneal parameters, or residual renal function was not associated with mortality.

Since there were individuals who increased their AOPPs plasma levels during the study period while others decreased them, we assumed that the analysis using the median value would not differentiate differences among patients. For this reason, and due to the lack of literature to recommend a clear cut-off value for the analysis, we decided to compare the groups according to the increase or decrease of the baseline AOPPs level and its magnitude (percentage) of change (median value 29.6%, with a range from –63.3 to +998.4%). Forty patients (83.3%) showed an increase of plasma AOPPs level at one year (in 14 of them this increase was > 50% from baseline value). The AOPPs levels decreased only in 8 (16.7%) patients. In those patients in whom the AOPPs levels increased more than 50% of baseline value, an association with past and future CV disease was found. A direct relationship between the percentage increment in AOPPs level at 12 months and CV antecedents was found (effect size; phi = 0.605, *p* < 0.001). In fact, patients with a CV history had 8.4 times higher risk (95% CI [2.09, 33.48]) to present a percentage of AOPPs increase greater of 50% at month 12 of PD treatment than those patients with no CV disease (Figure 1).

The percentage of increase in AOPPs at month 12 was also significantly associated with the development of new CV disease (effect size; phi = 0.612, *p* < 0.001). Among the patients who developed a CV event, the percentage of patients showing an increase of AOPPs greater than 50% at month 12 was significantly higher than those patients with an increase lower than 50% (64.3% versus 7.7%, *p* < 0.01). The first group of patients had 4.7 times greater risk (95% CI [2.04, 11.05]) to suffer later CV disease than those with the smaller increase (Figure 2), even after adjustment for prior CV disease history

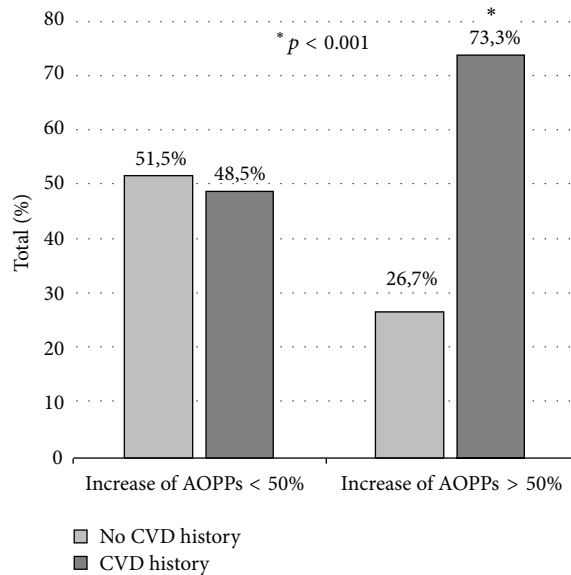


FIGURE 1: Prevalence of cardiovascular disease (CVD) according to the change of plasma AOPPs levels after one year on PD. Among patients with an increase lower than 50% ($n = 33$), there was no difference in prior CV disease prevalence whereas, among those with AOPPs increase higher than 50% ($n = 15$), there was a higher prevalence of prior CV disease. * $p < 0.001$ (significant CVD history in patients with an increase of plasma AOPPs levels greater than 50% versus lower than 50%).

(we first ruled out that the AOPPs levels were a modifier factor between the risk to develop a new CV event in patients with a CV history (Breslow-Day test, $p = 0.23$) and also that it was a confusion factor (Mantel-Haenszel test, $p < 0.05$)).

4. Discussion

Our interest has focused on the estimation of the oxidative stress of PD patients by measuring circulating AOPPs over a period of time on risk and to relate their behavior to CV status. The main finding of our study was that plasma AOPPs levels increase over time mostly among patients with CV history and also in patients with subsequent CV events suggesting that the change in AOPPs level represents a marker of a permanent CV risk status.

The median AOPP value in our study is in agreement with previous literature [17, 18], which uses the same methodology. To our knowledge, ours is the first study in which the AOPPs values were measured in the same patients at two different time points. Alike other markers such as CRP, it seems that AOPPs could be more valuable when being periodically monitored in clinic rather than when assessed as an isolated value. A prooxidant status defined by continuous increase in AOPPs levels would thus reflect a CV prone-event status. Probably, the prooxidant status will maintain a permanent endothelial dysfunction and promote new CV events. The opportunity of reducing this process and to estimate this reduction by AOPPs plasma levels give to our data potential clinical usefulness.

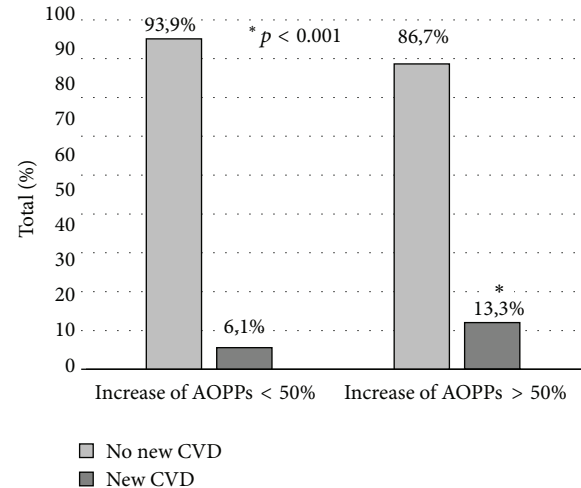


FIGURE 2: Incidence of new cardiovascular (CV) disease according to changes of plasma AOPPs level during one year on PD. Patients with an increase of AOPP higher than 50% ($n = 15$) had 4.7 times greater risk of developing a new CV event than those with a smaller increase of AOPP ($n = 33$). * $p < 0.001$ (significant CV disease in patients with an increase of plasma AOPPs levels greater than 50% versus lower than 50%).

Dialysis patients have an increased risk of CV morbidity and mortality. Nonclassical CV risk factors such as inflammation, malnutrition, endothelial dysfunction, and oxidative stress have been suggested to be responsible for this risk [1, 2]. Witko-Sarsat et al. [5] first described the presence of high levels of plasma oxidized proteins in hemodialysed patients and named them AOPPs. They found that these altered proteins seem to act not only as true inflammatory mediators, but also as uremic toxins with proinflammatory effects [6]. Besides, CKD is a low grade inflammatory process due to several mechanisms such as a failure of reactive oxygen species (ROS) clearance or a low level of antioxidant vitamins due to dietary restrictions (fruits and vegetables).

Oxidative stress is also the unifying mechanism for many CV risk factors, which additionally supports its central role in CV disease. The majority of CV disease results from complications of atherosclerosis [19–22]. An important initiating event for atherosclerosis may be the transport of oxidized-LDL (Ox-LDL) across the endothelium into the artery wall. Endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages are the sources of oxidants in the cells, which induce the expression of adhesion molecules and chemotactic factors. These processes lead to the activation, attachment of T lymphocytes and monocytes to the endothelial cells, and the generation of reactive oxygen species (ROS), which convert Ox-LDL into highly oxidized LDL, which, in turn, will form foam cells.

Although the concept of atherosclerosis as an inflammatory disease is now well established, evidence suggests that chronic inflammation may be considered a common pathogenic step in the pathogenesis of insulin resistance, diabetes, atherosclerosis, and CV disease [23]. Inflammation is one manifestation of oxidative stress, caused by

a mitochondrial overgeneration of free radicals, and the pathways that generate the mediators of inflammation, such as adhesion molecules and interleukins, are all induced by oxidative stress.

Our data did not show a relationship between plasma AOPPs and RRF, which disagrees with previous studies performed on PD patients [24]; although our small sample size could mask a real association, it may also be related to the greater RRF and diuresis of our patients as compared to previous literature, even at one year after starting PD [24]. The suggestion of AOPPs as an endogenous nephrotoxic agent cannot be confirmed by our data.

However, to our knowledge, this is the first study analyzing the relationship between AOPPs and CV disease in PD patients. The difficulty in performing the AOPPs determination encourages conducting a pilot study before performing larger studies or introducing them into clinical practice. Due to the relatively low number of patients in this study, the results should be interpreted with caution; on the other hand, we were able to identify statistically significant associations related to AOPPs levels. Nevertheless, the small sample size and the difficulty of measuring these markers are the main limitations of our study. Furthermore, we cannot dismiss the possibility that RRF may have interfered with the results. Nevertheless, the possibility to include AOPPs as a new marker to predict or measure “non-classical” CV risk in patients at high risk, such as those on PD, should be considered when designing further clinical studies to confirm and further exploit these results.

In conclusion, the results of the current pilot study suggest that the increment of plasma AOPPs levels over the first year on PD associates with CV antecedents and also relates to the risk of developing new CV events. The plasma AOPP levels may be a useful marker that can represent the CV status of PD patients with sensitivity to reflect changes in those patients at a clear higher permanent CV risk.

Conflict of Interests

Baxter Healthcare Corporation employs Bengt Lindholm. None of the other authors have reported any conflict of interests.

Acknowledgments

This study was partially funded with the Rio Hortega Grant Program from the ISCIII, the Extramural Grant Program of Baxter, FIS 12/00241, and REDinREN program from the ISCIII-FEDER Funds, IRSIN-FRIAT. Baxter Novum is a result of a grant from Baxter Healthcare to Karolinska Institutet.

References

- [1] R. T. Krediet and O. Balafa, “Cardiovascular risk in the peritoneal dialysis patient,” *Nature Reviews Nephrology*, vol. 6, no. 8, pp. 451–460, 2010.
- [2] P. Stenvinkel, J. J. Carrero, J. Axelsson, B. Lindholm, O. Heimbürger, and Z. Massy, “Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in the chronic kidney disease patient: how do new pieces fit into the uremic puzzle?” *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 3, no. 2, pp. 505–521, 2008.
- [3] H. Alani, A. Tamimi, and N. Tamimi, “Cardiovascular comorbidity in chronic kidney disease: current knowledge and future research needs,” *World Journal of Nephrology*, vol. 3, no. 4, pp. 156–168, 2014.
- [4] F. Locatelli, B. Canaud, K.-U. Eckardt, P. Stenvinkel, C. Wanner, and C. Zoccali, “Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging treat to patient outcome,” *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 18, no. 7, pp. 1272–1280, 2003.
- [5] V. Witko-Sarsat, M. Friedlander, C. Capeillère-Blandin et al., “Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia,” *Kidney International*, vol. 49, no. 5, pp. 1304–1313, 1996.
- [6] V. Witko-Sarsat, V. Gausson, and B. Descamps-Latscha, “Are advanced oxidation protein products potential uremic toxins?” *Kidney International, Supplement*, vol. 63, no. 84, pp. S11–S14, 2003.
- [7] B. Descamps-Latscha and V. Witko-Sarsat, “Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure,” *Kidney International, Supplement*, vol. 59, no. 78, pp. S108–S113, 2001.
- [8] P. Iglesias and J. J. Díez, “Glucación no enzimática de proteínas en la diabetes mellitus,” *Medicina Clínica*, vol. 108, no. 1, pp. 23–33, 1997.
- [9] V. Witko-Sarsat, M. Friedlander, T. N. Khoa et al., “Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure,” *Journal of Immunology*, vol. 161, no. 5, pp. 2524–2532, 1998.
- [10] V. Witko-Sarsat, T. Nguyen-Khoa, P. Jungers, T. B. Drüeke, and B. Descamps-Latscha, “Advanced oxidation protein products as a novel molecular basis of oxidative stress in uraemia,” *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 14, supplement 1, pp. 76–78, 1999.
- [11] A. Y.-M. Wang and K.-N. Lai, “The importance of residual renal function in dialysis patients,” *Kidney International*, vol. 69, no. 10, pp. 1726–1732, 2006.
- [12] H. Kocak, S. Gumuslu, E. Sahin et al., “Advanced oxidative protein products are independently associated with endothelial function in peritoneal dialysis patients,” *Nephrology*, vol. 14, no. 3, pp. 273–280, 2009.
- [13] R. Sánchez-Villanueva, A. Bajo, G. Del Peso et al., “Higher daily peritoneal protein clearance when initiating peritoneal dialysis is independently associated with peripheral arterial disease (PAD): a possible new marker of systemic endothelial dysfunction?” *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 24, no. 3, pp. 1009–1014, 2009.
- [14] B. Anderstam, B.-H. Ann-Christin, A. Valli, P. Stenvinkel, B. Lindholm, and M. E. Suliman, “Modification of the oxidative stress biomarker AOPP assay: application in uremic samples,” *Clinica Chimica Acta*, vol. 393, no. 2, pp. 114–118, 2008.
- [15] Z. J. Twardoski, K. D. Nolph, and R. Khan, “Peritoneal equilibration test,” *Peritoneal Dialysis Bulletin*, vol. 7, pp. 138–147, 1987.
- [16] R. Selgas, M.-J. Fernandez-Reyes, E. Bosque et al., “Functional longevity of the human peritoneum: how long is continuous peritoneal dialysis possible? Results of a prospective medium long-term study,” *American Journal of Kidney Diseases*, vol. 23, no. 1, pp. 64–73, 1994.

- [17] Q. Zhou, S. Wu, J. Jiang et al., "Accumulation of circulating advanced oxidation protein products is an independent risk factor for ischaemic heart disease in maintenance haemodialysis patients," *Nephrology*, vol. 17, no. 7, pp. 642–649, 2012.
- [18] H. Xu, I. Cabezas-Rodriguez, A. Rashid Qureshi et al., "Increased levels of modified advanced oxidation protein products are associated with central and peripheral blood pressure in peritoneal dialysis patients," *Peritoneal Dialysis International*, vol. 1, pp. 1–11, 2014.
- [19] N. R. Madamanchi, A. Vendrov, and M. S. Runge, "Oxidative stress and vascular disease," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 25, no. 1, pp. 29–38, 2005.
- [20] B. B. Dokken, "The pathophysiology of cardiovascular disease and diabetes: beyond blood pressure and lipids," *Diabetes Spectrum*, vol. 21, no. 3, pp. 160–165, 2008.
- [21] F. J. Pashkow, "Oxidative stress and inflammation in heart disease: do antioxidants have a role in treatment and/or prevention?" *International Journal of Inflammation*, vol. 2011, Article ID 514623, 9 pages, 2011.
- [22] B. Descamps-Latscha, V. Witko-Sarsat, T. Nguyen-Khoa et al., "Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients," *The American Journal of Kidney Diseases*, vol. 45, no. 1, pp. 39–47, 2005.
- [23] M. Skvarilová, A. Bulava, D. Stejskal, S. Adamovská, and J. Bartek, "Increased level of advanced oxidation products (AOPP) as a marker of oxidative stress in patients with acute coronary syndrome," *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*, vol. 149, no. 1, pp. 83–87, 2005.
- [24] R. Furuya, H. Kumagai, M. Odamaki, M. Takahashi, A. Miyaki, and A. Hishida, "Impact of residual renal function on plasma levels of advanced oxidation protein products and pentosidine in peritoneal dialysis patients," *Nephron Clinical Practice*, vol. 112, no. 4, pp. c255–c261, 2009.

Artículo 3

“Análisis de la composición corporal mediante bioimpedancia eléctrica y la absorciometría dual de rayos x (DXA), así como de las adipocitoquinas circulantes en pacientes en hemodiálisis: la ganancia de grasa abdominal como factor de riesgo cardiovascular añadido”.

“Análisis de la composición corporal mediante bioimpedancia eléctrica y la absorciometría dual de rayos X (DXA), así como de las adipocitoquinas circulantes en pacientes en hemodiálisis: la ganancia de grasa abdominal como factor de riesgo cardiovascular añadido”

Elena González, Juan J Díez, Almudena Pérez Torres, M^a Auxiliadora Bajo, Gloria del Peso, Rafael Sánchez-Villanueva, Cristina Grande, Olaia Rodríguez, Mónica Coronado, Carmen Gómez Candela, Mariana Díaz-Almirón, Pedro Iglesias, Rafael Selgas.

Nefrología. 2016; <http://dx.doi.org/10.1016/j.nefro.2016.06.007> (En prensa).

Factor de impacto: 1,207

Este trabajo responde al objetivo 2

INTRODUCCIÓN

La grasa abdominal y, sobre todo, su ganancia a lo largo del tiempo, se ha consolidado como un factor de riesgo CV en pacientes urémicos.

OBJETIVOS

Analizar los cambios en la grasa abdominal en los pacientes de HD a lo largo de un año y estudiar sus posibles relaciones con los cambios en los niveles circulantes de adipocitoquinas. Como objetivo secundario intentamos validar los datos obtenidos por bioimpedancia eléctrica (BIA) con los obtenidos por absorciometría dual de rayos X (DXA).

PACIENTES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo de un año de duración en 18 pacientes en HD. En cada paciente se cuantificó, basalmente y al cabo de un año, la composición

corporal por BIA y DXA y se determinaron varios parámetros bioquímicos incluyendo adipocitoquinas.

RESULTADOS

Tras un año de seguimiento, se evidenció un aumento significativo del ángulo de fase [4,8° (4,1-5,6) frente a 5,2° (4,4-5,8), $p<0,05$], del agua intracelular por BIA [48,3% (43,1-52,3) frente a 50,3% (45,7-53,4), $p<0,05$] y del cociente entre el porcentaje de grasa de distribución androide/ginecoide (A/G) medido por DXA [1,00 (0,80-1,26) frente a 1,02 (0,91; 1,30), $p<0,05$].

Además, se encontró una relación estadísticamente significativa entre el porcentaje de masa grasa, bien medida por BIA como estimada por DXA, con las concentraciones de leptina y adiponectina ($p<0,01$).

Finalmente, se encontró una correlación significativa entre los parámetros de masa grasa cuantificados por BIA y por DXA, lo que sugiere una buena concordancia entre ambos métodos de medida de composición corporal.

CONCLUSIONES

Los pacientes en HD experimentan una ganancia de grasa con el tiempo, especialmente en localización abdominal, evidenciada por un aumento del cociente A/G, lo que podría explicar el aumento del riesgo CV que presentan estos pacientes.



Original

Composición corporal y concentraciones de adipocitoquinas en hemodiálisis: la ganancia de grasa abdominal como factor de riesgo cardiovascular añadido. Ganancia de grasa y riesgo cardiovascular

Elena González^{a,*}, Juan J. Díez^b, Almudena Pérez Torres^a, María Auxiliadora Bajo^a, Gloria del Peso^a, Rafael Sánchez-Villanueva^a, Cristina Grande^c, Olaia Rodríguez^c, Mónica Coronado^d, Carmen Gómez Candela^e, Mariana Díaz-Almirón^f, Pedro Iglesias^b y Rafael Selgas^a

^a Servicios de Nefrología, Hospital Universitario La Paz, IdiPAZ, FRIAT-IRSIN, REDinREN, Madrid, España

^b Servicio de Endocrinología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

^c Servicio de Bioquímica, Hospital Universitario La Paz, IdiPAZ, FRIAT-IRSIN, REDinREN, Madrid, España

^d Servicio de Medicina Nuclear, Hospital Universitario La Paz, IdiPAZ, FRIAT-IRSIN, REDinREN, Madrid, España

^e Servicio de Nutrición, Hospital Universitario La Paz, IdiPAZ, FRIAT-IRSIN, REDinREN, Madrid, España

^f Servicio de Bioestadística, Hospital Universitario La Paz, IdiPAZ, FRIAT-IRSIN, REDinREN, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 10 de noviembre de 2015

Aceptado el 25 de junio de 2016

On-line el xxx

Palabras clave:

Absorciometría dual de rayos X

(DXA)

Bioimpedancia eléctrica (BIA)

Leptina

Adiponectina

FGF-21

Hemodiálisis

R E S U M E N

Introducción: La grasa abdominal y, sobre todo, su ganancia a lo largo del tiempo, se ha consolidado como un factor de riesgo cardiovascular en pacientes urémicos.

Objetivos: Analizar los cambios en la grasa abdominal en los pacientes de hemodiálisis (HD) a lo largo de un año y estudiar sus posibles relaciones con los cambios en los niveles circulantes de adipocitoquinas. Como objetivo secundario intentamos validar los datos obtenidos por bioimpedancia eléctrica (BIA) con los obtenidos por absorciometría dual de rayos X (DXA).

Material y métodos: Se realizó un estudio prospectivo de un año de duración en 18 pacientes en HD. En cada paciente se cuantificó, basalmente y al cabo de un año, la composición corporal por BIA y DXA y se determinaron varios parámetros bioquímicos incluyendo adipocitoquinas.

Resultados: Se evidenció un aumento significativo del ángulo de fase [4,8° (4,1-5,6) frente a 5,2° (4,4-5,8); $p < 0,05$], del agua intracelular por BIA [48,3% (43,1-52,3) frente a 50,3% (45,7-53,4); $p < 0,05$] y del cociente entre el porcentaje de grasa de distribución androide/ginecoide (A/G) medido por DXA [1,00 (0,80-1,26) frente a 1,02 (0,91; 1,30); $p < 0,05$]. Se encontró una relación estadísticamente significativa entre las concentraciones de leptina y adiponectina tanto con el porcentaje de masa grasa medida por BIA como con la grasa abdominal estimada mediante DXA ($p < 0,01$).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mariaelena.gonzalez.garcia@salud.madrid.org (E. González).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.nefro.2016.06.007>

0211-6995/© 2016 Sociedad Española de Nefrología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Conclusión: Los pacientes en HD experimentan una ganancia de grasa con el tiempo, especialmente en localización abdominal, evidenciada por un aumento del cociente A/G, lo que podría explicar el aumento del riesgo cardiovascular que presentan.

© 2016 Sociedad Española de Nefrología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Body composition analysis and adipocytokine concentrations in haemodialysis patients: abdominal fat gain as an added cardiovascular risk factor. Abdominal fat gain and cardiovascular risk

A B S T R A C T

Keywords:

Dual X-ray absorptiometry (DXA)
Electrical bioimpedance (BIA)
Leptin
Adiponectin
FGF-21
Haemodialysis

Introduction: Abdominal fat and its increment over time in particular has become a cardiovascular risk factor in uraemic patients.

Objectives: To analyse changes in abdominal fat in haemodialysis patients over one year and study their possible correlation with the variation in adipocytokine serum levels. As a secondary objective, we tried to validate the data obtained by bioelectrical impedance analysis (BIA) with data obtained by dual X-ray absorptiometry (DXA).

Material and methods: A prospective one-year study was performed in 18 patients on haemodialysis (HD). In each patient, body composition by BIA and DXA was estimated at baseline and after one year. Several adipocytokine and biochemical parameters were determined.

Results: A significant increase in phase angle [4.8° (4.1-5.6) vs. 5.2° (4.4-5.8), $P<.05$], BIA intracellular water [48.3% (43.1-52.3) vs. 50.3% (45.7-53.4), $P<.05$] and the ratio between the percentage of android/gynecoid (A/G) distribution of fat measured by DXA [1.00 (0.80-1.26) vs. 1.02 (0.91-1.30), $P<.05$] was observed. A statistically significant relationship between leptin and adiponectin concentrations and the percentage of fat mass measured by BIA, as well as the abdominal fat percentage estimated by DXA, was found ($P<.01$).

Conclusion: HD patients exhibit a gain in fat mass over time, especially in the abdomen, evidenced by an increased A/G ratio. These findings might explain the increased cardiovascular risk in these patients.

© 2016 Sociedad Española de Nefrología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La enfermedad cardiovascular (CV) es la principal causa de morbimortalidad en los pacientes con enfermedad renal¹. La obesidad está estrechamente asociada con un aumento del riesgo de sufrir una enfermedad CV². Se asocia con un proceso inflamatorio crónico de baja intensidad, ya que existe un aumento de los niveles circulantes de citocinas proinflamatorias y de proteínas de fase aguda.

La leptina es un modulador de la respuesta inmune que estimula la producción de citocinas proinflamatorias y provoca un aumento significativo de la actividad simpática^{3,4}. La adiponectina es la adipocina que presenta una mayor expresión en el adipocito^{5,6}. Su concentración plasmática disminuye en individuos con sobrepeso y obesidad⁷. Algunos estudios realizados con diferentes poblaciones han revelado que las concentraciones bajas de adiponectina pueden predecir de forma independiente el desarrollo futuro de resistencia a la insulina y otros han demostrado que la adiponectina posee propiedades antiaterogénicas y antiinflamatorias que pueden regular negativamente el proceso aterogénico⁸.

El factor de crecimiento de fibroblastos 21 (FGF-21) estimula la entrada de glucosa en el adipocito independientemente de la insulina, suprime la producción de glucosa hepática y está implicado en la regulación de la grasa corporal⁹. Además, se correlaciona directamente con el índice de masa corporal (IMC), los niveles de leptina, triglicéridos, insulina e índice HOMA-IR¹⁰. El FGF-21 se metaboliza principalmente por el riñón, por lo que la disminución de la función renal provocaría un aumento de sus niveles plasmáticos¹¹. Además, la insuficiencia renal crónica es un estado de deficiencia de β -Klotho soluble (co-receptor del FGF-21), lo que conlleva un posible estado de resistencia, como sucede con el FGF-23¹², cuyo impacto clínico no ha sido aún estudiado.

El aumento de la mortalidad CV de los pacientes en diálisis no está completamente explicado por los factores de riesgo «clásicos», por lo que, en los últimos años, han surgido numerosos factores «no clásicos». La grasa abdominal y, sobre todo, su ganancia a lo largo del tiempo, se ha consolidado como un factor de riesgo CV importante, especialmente en pacientes urémicos¹³.

La absorciometría dual de rayos X (DXA)¹⁴ es una técnica de referencia que permite valorar la composición corporal desde

un punto de vista de 3 compartimentos: masa grasa (MG), masa ósea (MO) y la masa magra (MM). Las exploraciones de cuerpo entero permiten realizar determinaciones regionales de MG¹⁵.

La escasa información disponible sobre la composición corporal en los pacientes urémicos y su influencia sobre la mortalidad CV nos animó a realizar este estudio piloto. Nuestro objetivo principal ha sido comprobar si existe una ganancia de grasa abdominal en los pacientes de hemodiálisis (HD) y estudiar sus posibles relaciones con los cambios en los niveles plasmáticos de adipocitocinas, lo que podría estar en relación con las alteraciones metabólicas inducidas por la actividad adipocitaria en la uremia. Como objetivo secundario, intentamos validar los datos obtenidos por bioimpedancia (BIA) con los obtenidos por la DXA (*gold standard* para la determinación de la composición corporal y técnica poco accesible en la práctica clínica diaria).

Pacientes y métodos

Diseño del estudio

Se realizó un estudio prospectivo de un año en el que se incluyó a 18 pacientes en HD. La población fue seleccionada entre los pacientes atendidos en el Servicio de Nefrología del Hospital Universitario La Paz. Los criterios de inclusión fueron los siguientes: pacientes mayores de 18 años, en tratamiento renal sustitutivo por un periodo superior a 3 meses e inferior a 5 años, sin deterioro de sus capacidades cognitivas y que firmaran el consentimiento informado. Los criterios de exclusión fueron: pacientes con neoplasia activa, o limitada esperanza de vida. La edad avanzada no constituyó por sí misma un criterio de exclusión. Se registraron datos demográficos y datos relativos al tratamiento renal sustitutivo, así como las comorbilidades o procesos intercurrentes. El período de reclutamiento de los pacientes fue de mayo del 2011 a marzo del 2013. Se diseñó un modelo de consentimiento informado que fue firmado por cada participante. Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario La Paz.

Las medidas antropométricas y de composición corporal, así como las muestras sanguíneas, fueron recogidas en ayunas en 2 ocasiones: en la visita inicial (entre 2011 y 2013) y 12 meses después.

El análisis bioquímico se realizó en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario La Paz. En ambas muestras se realizaron las siguientes determinaciones: glucemia, perfil lipídico (colesterol y triglicéridos), albúmina, insulina, índice HOMA-IR, ácidos grasos libres, proteína C reactiva (PCR), leptina, adiponectina, interleucina-6 (IL-6), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y FGF-21. Todas las determinaciones analíticas se extrajeron en ayunas: prediálisis en el turno de mañana en los pacientes en HD y coincidiendo con la realización de la cinética peritoneal en el caso de los de pacientes en diálisis peritoneal (DP).

Posteriormente se realizó una segunda parte, en la que se seleccionó un grupo control, compuesto por 17 pacientes en DP, procedentes del Servicio de Nefrología, que cumplieran los mismos criterios que los pacientes en HD: se realizó un estudio

transversal basal comparativo entre 29 pacientes en HD y los de DP. Este estudio sirvió para comparar los datos de composición corporal entre ambos grupos de pacientes y para realizar los estudios de concordancia entre los métodos de análisis de la composición corporal.

Antropometría y composición corporal

La obtención de las medidas antropométricas de los pacientes se ajustó a la técnica estándar y a la normativa internacional vigente recomendada (WHO, 1976). Estas medidas fueron realizadas con el sujeto descalzo y en ropa interior. Las medidas se tomaron siempre prediálisis en el caso de los pacientes en HD, y con el abdomen en vacío en los de DP. Para medir el peso se utilizó un analizador de la composición corporal (TANITA BC-420MA, Biológica Tecnología Médica S.L. Barcelona, España). La talla fue obtenida mediante un tallímetro de precisión milimétrica (rango: 80-200 cm). Para la medición de la circunferencia muscular del brazo (CMB) se utilizó una cinta métrica inextensible de precisión milimétrica (0,1 cm). El pliegue tricípital (PCT) se obtuvo mediante un plicómetro Holtain de 20 cm de amplitud y sensibilidad de 0,2 mm. A partir de las medidas antropométricas de peso y talla se calculó el índice de masa corporal (IMC) (peso [kg]/talla [m²]). La circunferencia de la cintura (Cci) se midió en cm, usando una cinta métrica de precisión milimétrica y dando la vuelta a la cintura en posición horizontal (nivel más estrecho del tronco, línea media entre la cresta ilíaca y la última costilla). La toma de la medida se hizo al final de una espiración normal.

La composición corporal se cuantificó usando tanto BIA como DXA. Para la determinación de la composición corporal por BIA se utilizó un impedanciómetro tetrapolar vectorial a 50 kHz, con una intensidad de 0,8 mA, modelo BIA101 de Akern Systems (Florenzia, Italia). La medición se realizó siguiendo los criterios establecidos por el National Institute of Health Technology Assessment Conference Statement¹⁶. En el caso de que el paciente presentase acceso vascular para la realización de la diálisis, todas las mediciones se realizaron en el lado contralateral¹⁷. Como BIA multifrecuencia se empleó el monitor BCM (Body Composition Monitor, Fresenius Medical Care, Alemania), con un rango de emisión de frecuencias entre los 5 y los 1.000 kHz. La DXA fue realizada en el servicio de Medicina Nuclear del Hospital Universitario La Paz utilizando los *region of interest* (ROI) o *área de interés* recomendados por el fabricante del radiodensitómetro óseo con *software* enCore LUNAR 43616 ES (GE Healthcare, Buckinghamshire, Reino Unido) para las determinaciones regionales de MG (troncular, ginecoide y androide).

Procedimientos de laboratorio

Las muestras sanguíneas para la determinación del FGF-21 fueron recogidas en tubos de plasma heparina-litio y centrifugados a 3.500 rpm durante 10 min antes de su almacenaje a -40 °C o a -80 °C, hasta su análisis. El FGF-21 se cuantificó mediante un ensayo de tipo *enzyme-linked immunosorbent sandwich assay* (ELISA), según las instrucciones del fabricante (Merck-Millipore, Darmstadt, Alemania). La sensibilidad del ensayo fue 1,7 pg/ml y la precisión 5,7% intraensayo y 6,9% interensayo. El rango de normalidad esperado fue

inferior a 200 pg/ml. La leptina, IL-6, TNF- α y la adiponectina fueron cuantificadas mediante un inmunoanálisis multiplex (Milliplex®, Merck-Millipore, Darmstadt, Alemania). La sensibilidad para IL-6 fue de 1,4 pg/ml y su precisión intra- e interensayo del 7 y del 13%, respectivamente. La sensibilidad de la leptina fue 7,3 pg/ml y su precisión del 5 y del 11%, intra- e interensayo, respectivamente. Para el TNF- α , la sensibilidad fue de 0,4 pg/ml y la precisión de 8% intraensayo y del 7% interensayo. La determinación de los ácidos grasos libres se basó en un método enzimático colorimétrico *in vitro* (A25, Biosystems, Barcelona, España). Los valores esperados fueron 2,8-16,9 mg/dl para los hombres y 2,8-12,7 mg/dl para las mujeres. La precisión fue del 1,5%. La insulina se determinó por inmunoanálisis basado en quimioluminiscencia directa (Liaison, DiaSorin, Saluggia, Italia). Su sensibilidad fue 0,5 μ UI/ml, su precisión intraensayo del 3,9% y la interensayo del 4,3%. El índice HOMA-IR se calculó en los pacientes no diabéticos según la fórmula de Matthews¹⁸: $\text{HOMA-IR} = \text{glucosa (mmol/l)} \times \text{insulina (}\mu\text{U/ml)}/22,5$.

Análisis estadístico

Los datos se expresan como media \pm desviación típica (DT) para las variables continuas de distribución normal o como mediana y percentiles 25 y 75 para las variables de distribución no paramétrica, o como frecuencias absolutas y porcentajes en las variables cualitativas. Considerando el análisis basal de los datos, la comparación de las variables cualitativas entre 2 o más grupos se realizó a través del test de la Chi-cuadrado o test exacto de Fisher, dependiendo de la distribución de los datos. La comparación de variables cuantitativas entre 2 grupos se realizó a través del test de la U de Mann-Whitney o el test de la t de Student, dependiendo de la distribución de los datos. Se utilizó el test de Levene para comparar la variabilidad de la respuesta por grupo. Para analizar la asociación lineal basal de 2 variables continuas, se realizó el coeficiente de correlación de Spearman. Para la evaluación del grado de acuerdo existente entre 2 variables que evalúan un mismo concepto, se utilizaron las correlaciones bivariadas de Pearson.

Para el análisis longitudinal de los parámetros analíticos estudiados a partir de 2 puntos temporales (basal y al año), primero se realizó un análisis estratificado por modalidad e incidencia de la variable respuesta. Para ello se estimó el efecto de la modalidad, la incidencia o prevalencia y la interacción entre ambas, y se consideró el ajuste del modelo a partir de ecuaciones de estimación generalizada (GEE) para el caso de los datos longitudinales. Para analizar la posible asociación entre los diferentes parámetros analíticos estudiados y las variables independientes analizadas (parámetros antropométricos y de composición corporal estimados por BIA y DXA) se estimó el efecto a partir del *Score Statistics For Type 3 GEE Analysis*. Para analizar la asociación de las variables estratificadas para las que existía poco tamaño muestral, se utilizaron correlaciones de Spearman. El mismo estudio se realizó para el análisis del incremento (delta) o diferencia entre el valor final y basal, aunque en este caso el ajuste del modelo se realizó con un modelo lineal general.

Todas las pruebas estadísticas se consideraron bilaterales y, como valores significativos, aquellas *p* inferiores a 0,05. Los

datos se analizaron con el programa estadístico SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EE. UU.).

Resultados

Hemodiálisis frente a diálisis peritoneal

Las principales características clínicas, analíticas y antropométricas basales de ambos grupos se muestran en la [tabla 1](#). Los pacientes de HD presentaban un mayor PCT y una menor CMB que los de DP. No se objetivaron diferencias analíticas entre ambos grupos a excepción de una mayor albúmina y un menor colesterol en los pacientes de HD, a pesar de que estos pacientes llevaban más tiempo en diálisis que los de DP.

Los pacientes en HD presentaban un menor ángulo de fase y una mayor resistencia que los de DP. Además, tenían un mayor porcentaje de MG, menos masa muscular (MMusc) y MM. Respecto al porcentaje de agua corporal, los pacientes de HD presentaban un menor porcentaje de agua: eran estadísticamente significativas las diferencias en el agua corporal total (ACT), agua extracelular (AEC) e intracelular (AIC). Respecto a los parámetros de DXA, se objetivó un mayor porcentaje de grasa localizada en el tronco de los pacientes de HD comparados con los pacientes de DP.

Estudio longitudinal en hemodiálisis

En el estudio longitudinal realizado en los 18 pacientes en HD, se objetivó un incremento en la CB y la CMB ([tabla 2](#)). No se encontraron diferencias significativas en los parámetros analíticos, a excepción del colesterol. Se evidenció un aumento del ángulo de fase y del AIC, así como del cociente entre el porcentaje de grasa de distribución androide/ginecoide (A/G) medido por DXA (indicador de riesgo cardiovascular). También se evidenció un descenso del porcentaje de MMusc y del AEC.

Dado que el sexo influye sobre la composición corporal, en la [tabla 3](#) se muestran los mismos datos, desglosados por sexo. En los varones se objetivó un aumento de la CMB al año. No se objetivaron cambios estadísticamente significativos en la composición corporal estimada por DXA, a excepción del incremento del cociente grasa A/G. En las mujeres no se hallaron diferencias significativas en los parámetros antropométricos, analíticos, ni de composición corporal medida por BIA. Aunque existió una tendencia al aumento de grasa en todos los parámetros estudiados ([fig. 1](#)), solo fue estadísticamente significativo el aumento del cociente grasa A/G.

Cuando se compararon las diferencias basales entre hombres y mujeres, no se objetivaron diferencias significativas en los parámetros antropométricos ni analíticos, a excepción de los valores de albúmina y adiponectina ([tabla 3](#)). Se hallaron diferencias significativas en casi todos los parámetros de composición corporal medidos por BIA y en la mayoría de la DXA. Contrariamente a lo esperado, los varones presentaron un mayor porcentaje de MG respecto a las mujeres basalmente, no así al año de seguimiento debido a una tendencia a la ganancia de MG (sobre todo en las mujeres), que no fue significativa ([fig. 2](#)). Cuando se estudió mediante DXA, pudimos objetivar que las mujeres presentan un aumento estadísticamente significativo en el porcentaje de MG a todos los

Tabla 1 – Parámetros basales clínicos, bioquímicos, antropométricos y de composición corporal estudiados de la muestra global de 46 pacientes, estratificada según la modalidad de tratamiento renal sustitutivo

	Hemodiálisis (n = 29)	Diálisis peritoneal (n = 17)	p
Parámetros clínicos			
Edad (años)	72 (14)	52 (15)	NS
Sexo (n, % varones)	17 (58,6)	14 (82,3)	NS
DM (%)	41,4	41,2	NS
HTA (%)	66,7	74	NS
Incidentes (%)	17,2	52,9	<0,05
Tiempo en diálisis (meses)	20 (13)	12 (13)	NS
Parámetros antropométricos			
IMC (kg/m ²)	25,8 (4,7)	25,6 (6,7)	NS
PCT (mm)	17,2 (13,2; 20,5)	10,9 (10,2; 15,0)	<0,05
CB (mm)	26,8 (24,8; 30,1)	27,6 (25,3; 33,0)	NS
CMB (mm ²)	21,6 (20,6; 23,3)	23,2 (21,9; 29,0)	<0,05
Cci (mm)	99,0 (90,9; 105)	90,5 (78,6; 113,9)	NS
Parámetros analíticos			
AGNE (mg/dl)	110,0 (45,5; 151,5)	107,0 (77,3; 140,3)	NS
Colesterol (mg/dl)	150,2 (36,8)	181,2 (51,9)	<0,05
TG (mg/dl)	128,7 (63,3)	142,7 (71,1)	NS
Glucosa (mg/dl)	127,5 (52,1)	127,1 (74,3)	NS
HOMA	2,0 (1,2; 6,1)	3,3(1,4; 5,4)	NS
PCR (g/dl)	9,9 (7,1)	5,8 (4,8)	NS
Albúmina (g/dl)	4,2 (0,4)	3,6 (0,7)	<0,05
FGF-21 (pg/ml)	352 (88; 826)	104 (76; 246)	NS
IL-6 (pg/ml)	2,4 (1,6; 17,3)	4,1 (1; 15,9)	NS
TNF-α (pg/ml)	5,9 (4,9; 7,7)	4,6 (4,5; 5,4)	NS
Leptina (ng/ml)	18,2 (10,1; 40,3)	6,4 (4,1; 40,3)	NS
Leptina/IMC (pg/ml/kg/m ²)	762,1 (401,1; 1379,5)	225,3 (158,8; 536,3)	<0,05
Adiponectina (mcg/ml)	30,4 (25,3; 48,3)	23 (14,7; 26,6)	<0,05
Adiponectina/IMC	1,03 (0,76; 2,38)	0,85 (0,47; 2,88)	<0,05
BIA			
Angulo fase (°)	4,5 (4,2; 5,6)	6,0 (5,0; 6,6)	<0,01
Resistencia (Ohm)	620 (512;676)	436 (389;524)	<0,01
Masa grasa (%)	36,5 (32,0; 39,0)	16,0 (14,0; 24,0)	<0,01
Masa magra (%)	63,0 (60,0; 66,0)	84,0 (76,0; 86,0)	<0,01
Masa muscular (%)	39,5 (33,0; 43,0)	56,0 (48,0; 60,0)	<0,01
ACT (%)	50,2 (47,7; 52,6)	61,7 (60,7; 62,8)	<0,01
AEC (%)	51,8 (47,4; 55,9)	43,8 (41,9; 46,7)	<0,01
AIC (%)	48,3 (44,1; 52,6)	56,3 (53,2; 58,1)	<0,01
DXA			
DXA tronco tejido (% grasa)	41,0 (34,4; 44,8)	34,0 (16,0; 36,9)	<0,05
DXA tronco magro (kg)	20,4 (17,8; 22,0)	30,1 (26,0; 35,6)	NS
DXA ginecoide tejido (% grasa)	36,4 (31,5; 42,8)	26,8 (23,1; 42,6)	NS
DXA ginecoide magro (kg)	6,0 (4,7; 6,6)	8,2 (6,3; 8,9)	NS
DXA androide tejido (% grasa)	43,2 (33,0; 46,1)	34,3 (12,4; 38,4)	NS
DXA androide magro (kg)	3,2 (2,7; 3,9)	5,1 (3,8; 6,0)	NS
Cociente tejido A/G	1,0 (0,8; 1,3)	0,7 (0,6; 1,1)	NS
DXA total tejido (% grasa)	37,0 (31,9; 39,3)	28,8 (17,1; 40,0)	NS

Los datos se muestran como media (DT) para las variables de distribución normal y la mediana (p25; p75) para las variables no paramétricas. ACT: agua corporal total; AEC: agua extracelular; AGNE: ácidos grasos libres; AIC: agua intracelular; BIA: bioimpedancia; CB: circunferencia del brazo; Cci: circunferencia de la cintura; CMB: circunferencia muscular del brazo; Cociente A/G: cociente de grasa tejido androide/ginecoide; DM: diabetes; DXA: absorciometría dual de rayos X; FGF-21: factor de crecimiento fibroblástico 21; HOMA: Homeostasis Model Assessment; IL-6: interleucina 6; IMC: índice de masa corporal; PCR: proteína C reactiva; PCT: pliegue cutáneo tricipital; TG: triglicéridos; TNF-α: factor de necrosis tumoral α; NS: no significativo.

niveles (troncular, androide y ginecoide); sin embargo, cuando se consideró el cociente A/G, este fue mayor en los varones y, además, continuó aumentando durante el año de seguimiento (fig. 2).

No se encontraron diferencias significativas en los valores de leptina y adiponectina basales ni anuales entre hombres

y mujeres, a pesar de que se objetivó una tendencia al incremento de la leptina en las mujeres y de la adiponectina en los hombres. Se encontró una relación estadísticamente significativa entre las concentraciones de leptina y adiponectina tanto con el porcentaje de masa grasa medida por BIA como con la grasa abdominal estimada mediante DXA (tabla 4). En los

Tabla 2 – Parámetros bioquímicos, antropométricos, y de composición corporal estudiados en 18 pacientes de hemodiálisis, estratificados en la muestra basal y al año

	Hemodiálisis basal	Hemodiálisis anual	p
Parámetros antropométricos			
IMC (kg/m ²)	26,5 (5,2)	26,6 (5,3)	NS
PCT (mm)	18 (11,1; 26,8)	17,1 (11,8; 19,6)	NS
CB (mm)	25,7 (23,3; 30,8)	28,5 (25,0; 33,4)	<0,05
CMB (mm ²)	21,0 (19,4; 23,0)	22,8 (21,5; 25,7)	<0,05
Cci (mm)	101,3 (90,1; 107,3)	98,8 (89,7; 109,0)	NS
Parámetros analíticos			
AGNE (mg/dl)	128,5 (94,0; 208,3)	114,5 (57,3;153,6)	NS
Colesterol (mg/dl)	159,0 (43,4)	155,0 (65,4)	<0,05
TG (mg/dl)	132,1 (68,1)	143,3 (65,4)	NS
Glucosa (mg/dl)	127,6 (53,7)	122,2 (34,9)	NS
HOMA-IR (mg/dl)	2,0 (1,3; 7,9)	1,15 (0,8; 6,9)	NS
PCR (g/dl)	16,7 (24,2)	12,9 (20,1)	NS
Albúmina (g/dl)	4,2 (0,4)	4,1 (0,3)	NS
FGF-21 (pg/ml)	507,5 (117,5; 771,3)	414 (120,8; 1.480,6)	NS
IL-6 (pg/ml)	8,2 (2,3; 22,0)	5,1 (1,8; 28,6)	NS
TNF-a (pg/ml)	6,4 (5,0; 8,5)	6,5 (4,7; 9,0)	NS
Leptina (ng/ml)	14,6 (7,7; 48,3)	19,3 (11,4; 38,6)	NS
Leptina/IMC (pg/ml/kg/m ²)	762,1 (401,1; 1.379,5)	827,7 (506,1; 1.296,2)	NS
Adiponectina (mcg/ml)	29,5 (20,9; 53,9)	36,2 (26,5; 42,1)	NS
Adiponectina/IMC	1,03 (0,76; 2,38)	1,19 (0,99; 2,00)	NS
BIA			
Angulo fase (°)	4,8 (4,1; 5,6)	5,2 (4,4; 5,8)	<0,05
Masa grasa (%)	37 (34; 39)	25,9 (20,7;30,4)	NS
Masa magra (%)	63 (61; 66)	43,9 (34,5; 47,4)	NS
Masa muscular (%)	39,5 (33,0; 42,0)	24,8 (20,8; 30,7)	<0,05
ACT (%)	49,4 (47,5; 52,6)	50,0 (47,4; 52,9)	NS
AEC (%)	51,8 (47,8; 56,8)	49,7 (46,7; 54,2)	<0,05
AIC (%)	48,3 (43,1; 52,3)	50,3 (45,7; 53,4)	<0,05
DXA			
DXA tronco tejido (% grasa)	39,3 (30,9; 44,9)	39,7 (34,6; 46,6)	NS
DXA tronco magro (kg)	19,8 (18,1; 21,8)	19,8 (17,9; 22,0)	NS
DXA tejido ginecoide (% grasa)	37,8 (32,7; 43,7)	38,3 (34,4; 48,1)	NS
DXA ginecoide magro (kg)	5,4 (4,8; 6,1)	5,8 (5,2; 6,3)	NS
DXA tejido androide (% grasa)	41,9 (28,7; 47)	42,6 (32,6; 48)	NS
DXA androide magro (kg)	3,2 (2,7; 3,6)	3,2 (2,6; 3,6)	NS
Cociente tejido A/G	1,00 (0,80; 1,26)	1,02 (0,91; 1,30)	<0,05
DXA total tejido (% grasa)	37,2 (31,9; 42,9)	37,2 (34; 43,1)	NS

Los datos se muestran como media (DT) para las variables de distribución normal y la mediana (p25; p75) para las variables no paramétricas.

ACT: agua corporal total; AEC: agua extracelular; AGNE: ácidos grasos libres; AIC: agua intracelular; BIA: bioimpedancia; CB: circunferencia del brazo; Cci: circunferencia de la cintura; CMB: circunferencia muscular del brazo; cociente A/G: cociente de grasa tejido androide/ginecoide; DM: diabetes; DXA: absorciometría dual de rayos X; FGF-21: factor de crecimiento fibroblástico 21; HOMA: Homeostasis Model Assessment; IL-6: interleucina 6; IMC: índice de masa corporal; PCR: proteína C reactiva; PCT: pliegue cutáneo tricipital; TG: triglicéridos; TNF-a: factor de necrosis tumoral α ; NS: no significativo.

modelos estimados, se encontró una relación directa entre el porcentaje de MG (medida por BIA o DXA) y los niveles de leptina, así como una relación inversa entre el porcentaje de MG y los niveles de adiponectina. En ambos casos las relaciones fueron estadísticamente significativas.

Además, el incremento del cambio de estas adipocitocinas se correlacionó con el porcentaje de cambio de la MG (tabla 5). Se encontró una correlación estadísticamente significativa entre el cociente de grasa A/G y los niveles de leptina basales, así como una relación inversa, también estadísticamente significativa, entre el mencionado cociente y los niveles de adiponectina basal corregidos por el IMC. Esta correlación con la adiponectina corregida por el IMC se mantuvo al año de evolución, lo que no ocurrió con la leptina. No se objetivaron

diferencias significativas en el estudio longitudinal en las concentraciones séricas de FGF-21, ni en la población global ni en los subgrupos según el sexo.

Con respecto al segundo objetivo de nuestro estudio, se encontró una correlación significativa entre los parámetros de masa grasa cuantificados por BIA y por DXA (tabla 6), lo que indica una buena concordancia entre ambos métodos de medida de la composición corporal.

Discusión

Los resultados del presente estudio muestran que se produce una ganancia de grasa en los pacientes en HD a lo largo del tiempo, incluso en periodos de seguimiento limitados, como

Tabla 3 – Parámetros demográficos, bioquímicos, antropométricos y de composición corporal estudiados en 18 pacientes de hemodiálisis, estratificados por sexo y seguidos durante un año

Variables	Hemodiálisis varones (n = 10)		Hemodiálisis mujeres (n = 8)	
	Basal	Anual	Basal	Anual
Parámetros antropométricos				
BMI (kg/m ²)	26,5 (4,8)	26,9 (4,9)	26,0 (6,2)	25,6 (5,9)
PCT (mm)	16,2 (13,2; 22,4)	17,1 (12,5; 20,5)	15,8 (10,4; 15,0)	14,2 (13,6; 31,4)
CB (mm)	25,9 (24,1; 29,4)	29,0 (26,5; 32,0)	27,3 (24,0; 32,2)	26,0 (25,1; 36,1)
CMB (mm ²)	21,0 (20,3; 22,4)	23,6 (21,6; 26,0)*	22,3 (19,2; 24,1)	21,7 (20,8; 26,2)
Cci (mm)	103 (98; 113)	104 (98; 110)	91 (81; 108)	93 (88; 104) ^a
Parámetros analíticos				
AGNE (mg/dl)	116 (76; 139)	115 (71; 149)	228 (149; 246)	130 (70; 160)
Colesterol (mg/dl)	156 (46)	149 (61)	157 (43)	159 (45)
TG (mg/dl)	145 (79)	153 (81)	101 (62)	115 (18)
Glucosa (mg/dl)	129 (62)	122 (36)	117 (39)	116 (37)
HOMA		1,1		1,3
PCR (g/dl)	16,9 (26,3)	8,1 (6,8)	14,6 (20,2)	19,6 (30,7)
Albúmina (g/dl)	4,4 (0,3)	4,2 (0,2)	4,0 (0,3) ^a	3,9 (0,3)
FGF-21 (pg/ml)	526 (133; 3.562)	1275 (312; 3.333)	571 (117; 571)	176 (118; 334)
IL-6 (pg/ml)	8,2 (2,4; 17,0)	9,2 (1,9; 20,0)	17,3 (2,4; 25,6)	7,7 (2,0; 39,4)
TNF-a (pg/ml)	6,7 (5,2; 8,3)	6,5 (5,6; 9,0)	6,9 (5,2; 8,5)	7,8 (2,2; 8,0)
Leptina (ng/ml)	12,4 (6,5; 33,4)	13,2 (10,3; 27,0)	14,9 (12,4; 51,1)	38,5 (20,0; 40,2)
Leptina/IMC	687,2 (296,2; 1379,5)	690,1 (448,2; 939,4)	762,1 (601,9; 1654,9)	1379,2 (827,7; 1795,5)
Adiponectina (mcg/ml)	27,1 (22,1; 35,3)	32,8 (26,1; 40,6)	58,5 (30,1; 64,2) 1	39,9 (39,4; 100,2)
Adiponectina/IMC	0,81 (0,76; 1,03)	1,06 (1,00; 1,19)	2,51 (1,29; 2,65)	1,86 (1,63; 3,83)
BIA				
Ángulo fase (°)	5,4 (4,4; 5,8)	5,6 (4,5; 6,9)	4,5 (3,9; 5,4) ^b	4,4 (4,3; 5,3)
M grasa (%)	38,0 (35,5; 38,5)	35,0 (31,0; 43,0)	34,0 (32,5; 38,5)	39,0 (33,0; 43,0)
M magra (%)	62,0 (61,5; 64,5)	65,0 (57,0; 69,0)	66,0 (61,5; 67,5)	61,0 (57,0; 67,0)
M muscular (%)	40,0 (37,0; 41,0)	37,0 (29,5; 43,5)	41,0 (38,0; 46,5)	38,0 (32,0; 42,5)
ACT (%)	49,6 (48,2; 50,7)	49,1 (45,2; 52,8)	50,9 (49,4; 53,2)	47,4 (44,0; 51,0)
AEC (%)	48,4 (47,2; 52,2)	53,7 (51,1; 57,3)	47,4 (44,3; 51,4)	54,2 (49,7; 54,6)
AIC (%)	51,5 (47,9; 52,9)	46,5 (42,7; 49,0)	52,5 (48,6; 55,7)	45,9 (45,5; 50,3)
DXA				
DXA tronco tejido (% MG)	42,0 (37,4; 44,2)	40,7 (38,9; 47,0)	40,3 (22,8; 50,9)	47,5 (25,2; 50,9)
DXA tronco magro (kg)	21,7 (20,3; 24,7)	21,9 (20,5; 24,1)	17,9 (16,1; 19,3) ^b	17,6 (15,4; 18,6) ^b
DXA tejido ginecoide (% MG)	33,9 (31,5; 37,9)	34,4 (32,3; 39,1)	45,7 (35,3; 54,0) ^b	50,0 (37,2; 52,6) ^a
DXA ginecoide magro (kg)	6,2 (5,9; 7,2)	6,2 (6,1; 6,9)	4,7 (4,5; 5,3) ^b	5,2 (4,1; 5,4) ^b
DXA tejido androide (% MG)	44,3 (39,1; 47,7)	42,6 (40,1; 50,5)	39,5 (20,4; 51,5)	47,1 (21,4; 52,7)
DXA androide magro (kg)	3,5 (3,1; 4,1)	3,6 (3,1; 3,9)	2,7 (2,5; 3,1) ^b	2,6 (2,5; 3,0) ^b
Cociente tejido A/G	1,2 (1,1; 1,4)	1,3 (1,1; 1,4)*	0,9 (0,7; 0,9) ^b	0,9 (0,7; 1,0)* ^b
DXA total tejido (% MG)	37,0 (34,4; 39,0)	37,2 (35,1; 40,9)	41,0 (27,5; 49,8)	45,8 (29,3; 49,9)

Los datos se muestran como media (DE) para las variables de distribución normal y la mediana (p25; p75) para las variables no paramétricas.

ACT: agua corporal total; AEC: agua extracelular; AGNE: ácidos grasos libres; AIC: agua intracelular; BIA: bioimpedancia; CB: circunferencia del brazo; Cci: circunferencia de la cintura; CMB: circunferencia muscular del brazo; cociente A/G: cociente grasa tejido androide/ginecoide; DM: diabetes; DXA: absorciometría dual de rayos X; FGF-21: factor de crecimiento fibroblástico 21; HOMA: Homeostasis Model Assessment; IL-6: interleucina 6; IMC: índice de masa corporal; PCR: proteína C reactiva; PCT: pliegue cutáneo tricipital; TG: triglicéridos; TNF-a: factor de necrosis tumoral α .

* $p < 0,05$.

^a $p < 0,05$.

^b $p < 0,01$ (vs. varones).

un año. Además, esta ganancia es claramente de distribución abdominal, lo que aumenta el riesgo CV asociado al tiempo en diálisis de estos pacientes.

También pudimos comprobar que los cambios a lo largo del seguimiento en los parámetros de composición corporal (ganancias o pérdidas de MG) demostraron guardar una correlación con los cambios en las concentraciones de adipocitocinas analizadas en estos pacientes.

Solo existe un estudio que haya analizado los cambios de composición corporal en los pacientes de HD mediante DXA¹⁹.

Se llevó a cabo en 72 pacientes japoneses incidentes en HD, a los que se les realizó una DXA en la visita basal y al cabo de un año, y en los que se objetivó un incremento medio de 118 ± 26 g/mes de masa grasa. Al contrario que en nuestro estudio, no encontraron diferencias por sexo y describen una correlación negativa con la albúmina y la MG basal.

Según los estudios realizados por Vague²⁰ acerca de los patrones de distribución de la MG y su asociación con alteraciones metabólicas, la distribución androide, o de predominio abdominal, de la grasa corporal es la que tiene una mayor

Tabla 4 – Estimación mediante un modelo de ecuación generalizada del efecto de la asociación entre los parámetros de composición corporal (medidos por bioimpedancia y absorciometría dual de rayos X), y las adipocitocinas estudiadas en 18 pacientes de hemodiálisis

Variables	FGF-21	IL-6	Leptina	Adiponectina
BIA ángulo fase	0,13	9,06*	1,76	-0,32
BIA masa grasa	0,14	1,92	10,80**	-0,59**
DXA tronco	-0,15	0,97	10,26**	-0,40*
DXA ginecoide	0,08	0,14	6,29*	0,03
DXA androide	-0,17	1,12	10,20**	-0,50**
DXA total	-0,08	0,58	8,62**	-0,24

Mediante un modelo de ecuación de estimación generalizada, se analizó el efecto entre variables a partir del «Score Statistics For Type 3 GEE Analysis» (coeficiente β).

BIA: bioimpedancia; DXA: absorciometría dual de rayos X; FGF-21: factor de crecimiento fibroblástico 21; IL-6: interleucina 6.

* $p < 0,05$.

** $p < 0,01$.

Tabla 5 – Matriz de correlación entre la variación de los parámetros de composición corporal en un año, medidos por bioimpedancia y absorciometría dual de rayos X, en los 18 pacientes de hemodiálisis y el incremento en las adipocitocinas estudiadas

	Δ MG BIA	Δ DXA tronco total	Δ DXA Ginecoide	Δ DXA Androide	Δ Cociente A/G
Δ leptina	0,92**	0,32	0,61*	0,85*	0,38
Δ leptina/IMC	0,71**	0,25	0,18	0,30	0,45
Δ adiponectina	-0,72*	-0,36	0,27	0,27	-0,58*
Δ FGF-21	-0,18	0,29	-0,32	-0,49	-0,01
Δ IL-6	0,27	-0,17	0,19	0,09	0,22

Las variables están expresadas como coeficientes de correlación para datos no paramétricos (rho de Spearman).

BIA: bioimpedancia; MG: masa grasa; cociente A/G: cociente tejido androide/ginecoide; DXA: absorciometría dual de rayos X; FGF-21: factor de crecimiento fibroblástico 21; IL-6: interleucina 6; IMC: índice de masa corporal; Δ : incremento o delta.

* $p < 0,05$.

** $p < 0,01$.

Tabla 6 – Evaluación del grado de concordancia existente (medida mediante correlaciones bivariadas de Pearson), entre la medición de la masa grasa, estimada por bioimpedancia de monofrecuencia y otras técnicas de composición corporal (bioimpedancia multifrecuencia y absorciometría dual de rayos X), en 29 pacientes de HD

Variable	Global	Hombres	Mujeres
Bia multi-MG	0,95	0,93	0,99
DXA Tejido tronco total	0,77	0,89	0,88
DXA región tronco total	0,77	0,9	0,88
DXA tronco tejido	0,85	0,9	0,88
DXA región tronco	0,85	0,9	0,88
DXA tejido ginecoide	0,58	0,82	0,86
DXA región ginecoide	0,58	0,82	0,87
DXA tejido androide	0,86	0,88	0,86
DXA región androide	0,86	0,89	0,87

Las variables están expresadas como coeficientes de correlación de Pearson, comparando las diferentes variables frente a masa grasa estimada por bioimpedancia vectorial. Todas las correlaciones son significativas ($p < 0,001$).

MG: masa grasa; HD: hemodiálisis.

trascendencia desde el punto de vista clínico, dada su asociación con un aumento del riesgo CV. La proporción de grasa pélvica A/G es la relación entre el porcentaje de grasa de región androide y ginecoide. El exceso de grasa abdominal (androide) se asocia con la existencia de diversos factores de riesgo CV²¹. La determinación del cociente A/G mediante DXA es una

herramienta simple y práctica para valorar la distribución de la grasa pélvica. Esta relación puede tener un papel para valorar el riesgo CV en los pacientes con exceso de peso^{15,22}.

El medio urémico contribuye a la retención de las adipocitocinas, la inflamación sistémica y al estrés oxidativo y la resistencia a la insulina^{23,24}. Datos experimentales indican que la uremia induce una lipogénesis disminuida y un aumento de la lipólisis, lo que promovería la redistribución de la grasa corporal. Nuestros resultados muestran un aumento estadísticamente significativo de los niveles plasmáticos de leptina y una disminución de los de adiponectina, incluso tras ajustar sus niveles por el IMC en los pacientes de HD. Cabe resaltar especialmente los elevados niveles de adiponectina detectados en nuestros pacientes, que algunos estudios relacionan con un incremento de la mortalidad²⁵. En su estudio, Rhee et al. demostraron en 501 pacientes en HD que niveles de adiponectina superiores a 30 mcg/ml se asociaba a 3 veces mayor riesgo de mortalidad por cualquier causa²⁶.

Un objetivo secundario de nuestro estudio era validar los datos obtenidos por BIA (técnica usada habitualmente en la práctica clínica) con los obtenidos por la DXA (gold standard para el estudio de la composición corporal). Nuestros datos señalan la existencia de una buena correlación entre los parámetros de composición corporal (porcentaje de masa grasa) obtenidos entre ambas técnicas.

La BIA estudia el estado nutricional y de hidratación de los pacientes en HD, permitiendo así ajustar el volumen de ultrafiltración y conocer la MMusc o MG. En los últimos

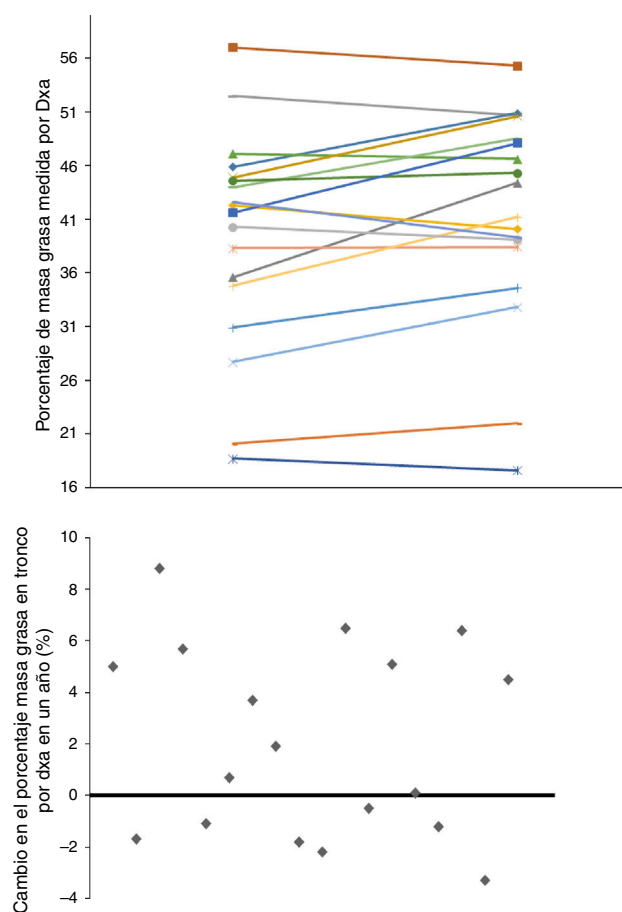


Figura 1 – Evolución del porcentaje de masa grasa, estimada por DXA, a lo largo de un año en los 18 pacientes de HD. En el gráfico inferior, se representa la diferencia de dicho cambio (el incremento de MG se representa por encima del eje de ordenadas y el descenso, por debajo).

años, se ha demostrado la relación de la MM y sus modificaciones con la supervivencia de los pacientes en HD²⁷. Está descrita en la literatura la relación que existe entre el ángulo de fase medido por BIA y la supervivencia, aunque no está claro si esta relación está ligada al estado nutricional. Algunos autores han demostrado que los pacientes con los ángulos de fase más bajos presentan una mayor mortalidad, independientemente de otros factores^{28,29}. Según el estudio realizado por Di Gioia³⁰, un ángulo mayor de 4,85° en HD parece ser un indicador de buen pronóstico en estos pacientes.

La absorciometría dual de rayos X (DXA)¹⁵ es una técnica que permite determinar el contenido de grasa corporal a través de la emisión de bajas dosis de radiación, basándose en la diferencia de atenuación de 2 niveles de energía por el hueso, la grasa y los tejidos blandos. Es una técnica de referencia, ya que las exploraciones de cuerpo entero permiten realizar determinaciones regionales de MG¹⁶. Se dispone de *software* asociado a los equipos que permiten seleccionar la región a estudio mediante la colocación de los denominados ROI. Como técnica de estudio de composición corporal, la DXA es útil para estimar la grasa troncular y abdominal, pero no permite

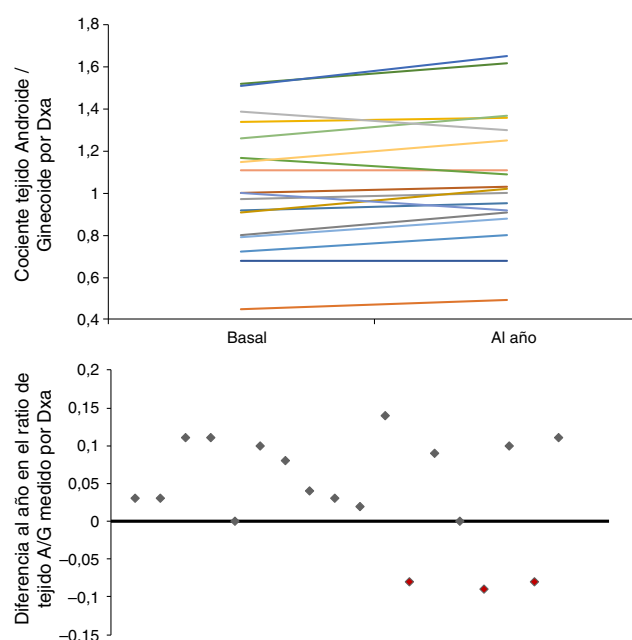


Figura 2 – Evolución del cociente de masa grasa A/G en el tejido abdominal, estimada por DXA, a lo largo de un año en los 18 pacientes en HD. En el gráfico inferior, se representa la diferencia del de dicho cambio (el incremento del cociente A/G se representa por encima del eje de ordenadas y el descenso, por debajo).

valorar con precisión los compartimentos grasos subcutáneo e intraabdominal visceral y perivisceral.

Existen escasos estudios publicados que comparen la BIA y DXA en pacientes en diálisis. Formica et al.³¹ realizaron en 1993 el primer estudio con 42 pacientes en diálisis, para el desarrollo de ecuaciones para la estimación de la MM y MG por BIA. Otro estudio es el de Donadio³², que comparó la concordancia en las diferentes mediciones de la composición corporal mediante BIA y DXA en 27 pacientes italianos en HD. En cambio, Abrahamsen³³ sí encontró diferencias entre la valoración de la composición corporal por DXA o BIA; en su estudio realizado en 19 pacientes en HD la DXA demostró una mayor exactitud en la estimación de la MM. No es posible comparar adecuadamente los resultados obtenidos en este estudio con los nuestros debido a la diferencia en las unidades de medida, aunque los pacientes en el estudio de Abrahamsen parecían presentar menores porcentajes de MG que los obtenidos en nuestro caso. Hasta donde podemos asegurar, este es el primer estudio de estas características realizado en población española en diálisis.

El tamaño muestral reducido y la dificultad para la medición de algunos parámetros son las principales limitaciones de nuestro estudio. Tampoco se tuvieron en cuenta los ingresos, ni se valoró la repercusión de la técnica dialítica ni sus dosis, aunque todos los pacientes tenían una dosis de diálisis adecuada. En el estudio longitudinal, solo se analizó a los pacientes que tenían todas las medidas antropométricas registradas, tanto basales como a los 12 meses. Debido a estas limitaciones, nuestros resultados deben interpretarse con precaución. Por otro lado, hemos podido demostrar una

ganancia de grasa abdominal en los pacientes de HD (con el aumento del riesgo CV asociado que ello conlleva) y su asociación estadísticamente significativa con los cambios en los niveles plasmáticos de adipocitocinas.

En conclusión, existe una ganancia de grasa en general, y de localización abdominal en particular, según aumenta la permanencia de los pacientes en diálisis lo que podría explicar, en parte, el aumento del riesgo CV que presentan los pacientes con insuficiencia renal; el cociente A/G es el parámetro más sensible para estimar dicho riesgo. Existe, además, una buena correlación entre los diferentes métodos de valoración de composición corporal (BIA y DXA).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Krediet RT. Peritoneal dialysis: From bench to bedside. *Clin Kidney J* [Internet]. 2013;6:568–77 [consultado 2 Jul 2015]. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4438370&tool=pmcentrez&rendertype=Abstract>
- Manzur F, Ciro A, Norma A. Adipocitos, obesidad visceral, inflamación y enfermedad cardiovascular. *Rev Colomb Cardiol* [Internet]. 2010;17:207–13. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcca/v17n5/v17n5a4.pdf>
- Díez JJ, Bossola M, Fernández-Reyes MJ, Di Stasio E, Tazza L, Luciani G, et al. Relationship between leptin and all-cause and cardiovascular mortality in chronic hemodialysis patients. *Nefrologia* [Internet]. 2011;31:206–12 [consultado 17 Abr 2013]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21461015>
- Aguilera A, Bajo MA, Rebollo F, Díez JJ, Díaz C, Paiva A, et al. Leptin as a marker of nutrition and cardiovascular risk in peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial* [Internet]. 2002;18:212–7 [consultado 7 Oct 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12402621>
- Palomer X, Pérez A, Blanco-Vaca F. Adiponectina: un nuevo nexo entre obesidad, resistencia a la insulina y enfermedad cardiovascular. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2005;124:388–95 [consultado 6 Jul 2015]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-adiponectina-un-nuevo-nexo-entre-13072576>
- Díez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol* [Internet]. 2003;148:293–300 [consultado 16 Sept 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12611609>
- Díez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived protein adiponectin in human disease: An update. *Mini Rev Med Chem* [Internet]. 2010;10:856–69 [consultado 7 Oct 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20482500>
- Shimada K, Miyazaki T, Daida H. Adiponectin and atherosclerotic disease. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2004;344(1–2):1–12 [consultado 16 Sept 2015]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000989810400107X>
- Iglesias P, Selgas R, Romero S, Díez JJ. Biological role, clinical significance, and therapeutic possibilities of the recently discovered metabolic hormone fibroblastic growth factor 21. *Eur J Endocrinol* [Internet]. 2012;167:301–9 [consultado 20 Mar 2013]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22740503>
- Semba RD, Sun K, Egan JM, Crasto C, Carlson OD, Ferrucci L. Relationship of serum fibroblast growth factor 21 with abnormal glucose metabolism and insulin resistance: The Baltimore longitudinal study of aging. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2012;97:1375–82 [consultado 17 Abr 2013]. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3319186&tool=pmcentrez&rendertype=Abstract>
- Han SH, Lee SC, Kang EW, Park JK, Yoon HS, Yoo T-H, et al. Reduced residual renal function is associated with endothelial dysfunction in patients receiving peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*. 2012.
- Olauson H, Larsson TE. FGF23 and Klotho in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* [Internet]. 2013;22:397–404. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23666415>
- Iglesias P, Díez JJ. Adipose tissue in renal disease: Clinical significance and prognostic implications. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2010;25:2066–77 [consultado 17 Abr 2013]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20466661>
- Bellido D, Carreira J. [revisión] Análisis por absorciometría de rayos X de doble energía y composición corporal. *Nutr Clin Med*. 2008;11:85–108.
- Ramos RM, Armán JA, Galeano NA, Mu A, Gómez JM, Molinero JG. Dual energy X-ray absorptimetry: Fundamentals, methodology, and clinical applications. *Radiologia*. 2012;54:410–23.
- Bioelectrical impedance analysis in body composition measurement: National Institutes of Health Technology Assessment Conference, Statement. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 1996;64 3 Suppl:524S–32S [consultado 15 Sept 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8780375>
- Huarte-Loza E, Barril-Cuadrado G, Cebollada-Muro J, Cerezo-Morales S, Coronel-Díaz F, Doñate-Cubells T, et al. Nutrición en pacientes en diálisis. Consenso SEDYT. Diálisis y Traspl [Internet]. 2006;27:138–61 [consultado 15 Sept 2015]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-dialisis-trasplante-275-articulo-nutricion-pacientes-dialisis-consenso-sedyt-13096282>
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* [Internet]. 1985;28:412–9 [consultado 20 Ene 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3899825>
- Ishimura E, Okuno S, Kim M, Yamamoto T, Izumotani T, Otsoshi T, et al. Increasing body fat mass in the first year of hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2001;12:1921–6 [consultado 30 Sept 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11518786>
- Vague J. The degree of masculine differentiation of obesities: A factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease [Internet] [consultado 16 Sept 2015]. Disponible en: <http://ajcn.nutrition.org/content/4/1/20.full.pdf>
- Mahabir S, Ettinger S, Johnson L, Baer DJ, Clevidence BA, Hartman TJ, et al. Measures of adiposity and body fat distribution in relation to serum folate levels in postmenopausal women in a feeding study. *Eur J Clin Nutr* [Internet]. 2007;62:644–50 [consultado 30 Sept 2015]. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3236439&tool=pmcentrez&rendertype=Abstract>

22. Wiklund P, Toss F, Weinehall L, Hallmans G, Franks PW, Nordström A, et al. Abdominal and gynoid fat mass are associated with cardiovascular risk factors in men and women. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008;93:4360–6 [consultado 30 Sept 2015]. Disponible en: http://press.endocrine.org/doi/10.1210/jc.2008-0804?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori%3Arid%3Acrsref.org&rft_dat=cr.pub%3Dpubmed&
23. Koppe L, Pelletier CC, Alix PM, Kalbacher E, Fouque D, Soulage CO, et al. Insulin resistance in chronic kidney disease: New lessons from experimental models. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2013;1–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24286973>
24. Díez JJ, Iglesias P, Fernández-Reyes MJ, Aguilera A, Bajo MA, Alvarez-Fidalgo P, et al. Serum concentrations of leptin, adiponectin and resistin, and their relationship with cardiovascular disease in patients with end-stage renal disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* [Internet]. 2005;62:242–9 [consultado 7 Oct 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15670203>
25. Estrada PN, Bajo MA, del Peso G, Iglesias P, Díez JJ, Fernández-Reyes MJ, et al. Hypoadiponectinemia: A cardiovascular risk factor in uremia. A view from the evidence. *Nefrología* [Internet]. 2006;26:653–7 [consultado 7 Oct 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17227241>
26. Rhee CM, Nguyen DV, Moradi H, Brunelli SM, Dukkupati R, Jing J, et al. Association of adiponectin with body composition and mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2015;66:313–21 [consultado 1 Oct 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25824125>
27. Yuste C, Abad S, Vega A, Barraca D, Bucalo L, Pérez-de José A, et al. Assessment of nutritional status in haemodialysis patients. *Nefrología* [Internet]. 2013;33:243–9 [consultado 30 Sept 2015]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0211-69952013000200013&lng=es&nrm=iso&tlng=es
28. Chertow GM, Lowrie EG, Wilmore DW, Gonzalez J, Lew NL, Ling J, et al. Nutritional assessment with bioelectrical impedance analysis in maintenance hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 1995;6:75–81 [consultado 30 Sept 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7579073>
29. Abad S, Sotomayor G, Vega A, Pérez de José A, Verdalles U, Jofré R, et al. The phase angle of the electrical impedance is a predictor of long-term survival in dialysis patients. *Nefrología* [Internet]. 2011;670–6 [consultado 30 Sept 2015]. Disponible en: <http://previous.revistanefrologia.com/modules.php?name=articulos&idarticulo=10999&idlangart=EN>
30. Di Gioia MC, Gallar Ruiz P, Cobo G. Body composition changes in hemodialysis patients: Implications for prognosis [Internet]. *Enliven Nephrol Renal Stud*. 2014;1:1–7 [consultado 30 Sept 2015]. Disponible en: <http://enlivenarchive.org/nephrology-renal-studies-001.pdf>
31. Formica C, Atkinson MG, Nyulasi I, McKay J, Heale W, Seeman E. Body composition following hemodialysis: Studies using dual-energy X-ray absorptiometry and bioelectrical impedance analysis. *Osteoporos Int* [Internet]. 1993;3:192–7 [consultado 31 Ago 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8338974>
32. Donadio C, Halim A Ben, Caprio F, Grassi G, Khedr B, Mazzantini M. Single- and multi-frequency bioelectrical impedance analyses to analyse body composition in maintenance haemodialysis patients: Comparison with dual-energy x-ray absorptiometry. *Physiol Meas* [Internet]. 2008;29:S517–24 [consultado 30 Sept 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18544819>
33. Abrahamsen B, Hansen TB, Høgsberg IM, Pedersen FB, Beck-Nielsen H. Impact of hemodialysis on dual X-ray absorptiometry, bioelectrical impedance measurements, and anthropometry. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 1996;63:80–6 [consultado 30 Sept 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8604674>

Artículo 4

“Relationship between leptin and all-cause and cardiovascular mortality in chronic hemodialysis patients”.

“Relación entre leptina y mortalidad global y cardiovascular en pacientes en hemodiálisis”

Juan José Díez, Maurizio Bossola, María José Fernández-Reyes, Enrico Di Stasio, Luigi Tazza, Giovanna Luciani, Rosa Codoceo, Pedro Iglesias, Astrid Rodríguez, Elena González, Rafael Selgas.

Nefrología 2011;31(2):206-12.

Factor de impacto: 1,207

Este trabajo responde al objetivo 2

INTRODUCCIÓN

La enfermedad CV es la principal causa de mortalidad en los pacientes en HD, estimándose que el riesgo en estos pacientes es entre 3,5-5 veces superior a la de la población general.

La leptina favorece la aterosclerosis y sus niveles se encuentran elevados de forma significativa en los pacientes en HD respecto a la población general. Varios estudios han demostrado, que los niveles de leptina se correlacionan de forma significativa con la aparición de hipertensión, dislipemia, alteración de la fibrinólisis e inflamación crónica.

OBJETIVOS

El objetivo del presente estudio ha sido evaluar la relación entre la leptina sérica y el cociente leptina/IMC con la enfermedad CV prevalente y su influencia en la mortalidad global y en la mortalidad por enfermedad CV en pacientes en HD.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se estudiaron 118 pacientes estables en HD (50 mujeres, edad mediana [recorrido intercuartílico], 65,1 [54,7- 72,2] años). En todos los pacientes se cuantificó la concentración basal de leptina. La relación entre leptina y la mortalidad se evaluó mediante análisis de supervivencia y análisis de regresión de Cox.

RESULTADOS

El cociente leptina/IMC fue similar en pacientes con y sin enfermedad CV prevalente (0,65 [0,29-2,23] frente a 0,68 [0,29-1,49] ng·m²/ml·kg, respectivamente).

El análisis de regresión logística mostró que no existía una asociación independiente entre el cociente leptina/IMC y la enfermedad CV prevalente. Durante el seguimiento 52 pacientes fallecieron (44,1%). La enfermedad CV fue causa de muerte en 27 de 52 pacientes fallecidos (51,9%). El análisis de supervivencia y el análisis multivariante de Cox mostraron que no hubo relación significativa entre los niveles de leptina o el cociente leptina/IMC y la mortalidad global o por causa de enfermedad CV.

CONCLUSIONES

Estos resultados no apoyan la hipótesis de que, en pacientes estables en HD, las concentraciones de leptina y el cociente leptina/IMC estén relacionados con la ECV prevalente. Más aún, el cociente leptina/IMC no parece ser un factor de riesgo de mortalidad en estos pacientes.

Relationship between leptin and all-cause and cardiovascular mortality in chronic hemodialysis patients

J.J. Díez¹, M. Bossola², M.J. Fernández-Reyes³, E. di Stasio², L. Tazza², G. Luciani², R. Codoceo⁴, P. Iglesias¹, A. Rodríguez³, E. González⁵, R. Selgas⁵

¹ Endocrinología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid, Spain

² Servizio Emodialisi. Università Cattolica del Sacro Cuore. Roma (Italia)

³ Nefrología. Hospital General de Segovia, Spain

⁴ Bioquímica. Hospital La Paz. Madrid, Spain

⁵ Nefrología. Hospital La Paz. Madrid, Spain

Nefrología 2011;31(2):206-12

doi:10.3265/Nefrologia.pre2010.Dec.10629

ABSTRACT

Background: We aimed to evaluate the relationship between serum leptin and the leptin/body mass index (BMI) ratio with prevalent cardiovascular disease (CVD), and their influence on all-cause and CVD-related mortality in patients on hemodialysis (HD). **Methods:** 118 stable HD patients (50 women, median [interquartile range] age, 65.1 [54.7-72.2] years) were studied. All patients had baseline measurement of serum leptin concentrations. Relationships between leptin and all-cause and CVD mortality were studied by means of survival analysis and Cox regression analysis. **Results:** The leptin/BMI ratio was similar in patients with and without CVD at baseline (0.65 [0.29-2.23] vs. 0.68 [0.29-1.49] ng·m²/ml·kg, respectively, NS). Multiple logistic regression analysis showed that there was not an independent association between leptin/BMI ratio and prevalent CVD. During the follow-up time, 52 (44.1%) patients died. CVD was the cause of death in 27 out of 52 (51.9%) deceased patients. Survival analysis and Cox proportional multivariate regression analysis showed that there were no significant relationships between leptin levels or the leptin/BMI ratio and all-cause and CVD-related mortality. **Conclusion:** These results do not support that, in stable HD patients, serum leptin concentrations and the leptin/BMI ratio are related with prevalent CVD. Leptin/BMI ratio seems not to be a risk factor for mortality in these patients.

Keywords: Leptin. End-stage renal disease. Hemodialysis. Mortality. Cardiovascular disease

Relación entre leptina y mortalidad global y cardiovascular en pacientes en hemodiálisis

RESUMEN

Introducción: El objetivo del presente estudio ha sido evaluar la relación entre la leptina sérica y el cociente leptina/índice de masa corporal (IMC) con la enfermedad cardiovascular (ECV) prevalente y su influencia en la mortalidad global y en la mortalidad por ECV en pacientes en hemodiálisis (HD). **Métodos:** Se estudiaron 118 pacientes estables en HD (50 mujeres, edad mediana [recorrido intercuartílico], 65,1 [54,7-72,2] años). En todos los pacientes se cuantificó la concentración basal de leptina. La relación entre leptina y la mortalidad se evaluó mediante análisis de supervivencia y análisis de regresión de Cox. **Resultados:** El cociente leptina/IMC fue similar en pacientes con y sin ECV prevalente (0,65 [0,29-2,23] frente a 0,68 [0,29-1,49] ng·m²/ml·kg, respectivamente, NS). El análisis de regresión logística mostró que no existía una asociación independiente entre el cociente leptina/IMC y la enfermedad cardiovascular prevalente. Durante el seguimiento 52 pacientes fallecieron (44,1%). La ECV fue causa de muerte en 27 de 52 pacientes fallecidos (51,9%). El análisis de supervivencia y el análisis multivariante de Cox mostraron que no hubo relación significativa entre los niveles de leptina o el cociente leptina/IMC y la mortalidad global o por causa de ECV. **Conclusión:** Estos resultados no apoyan la hipótesis de que, en pacientes estables en HD, las concentraciones de leptina y el cociente leptina/IMC estén relacionados con la ECV prevalente. Más aún, el cociente leptina/IMC no parece ser un factor de riesgo de mortalidad en estos pacientes.

Palabras clave: Leptina. Enfermedad renal terminal. Hemodiálisis. Mortalidad. Enfermedad cardiovascular.

INTRODUCTION

Cardiovascular disease (CVD) is the major cause of death in chronic hemodialysis (HD) patients¹. According to two of the

Correspondence: Juan José Díez Gómez
Servicio de Endocrinología.
Hospital Ramón y Cajal. Madrid. Spain.
jjdiez.hrc@salud.madrid.org

largest end-stage renal disease (ESRD) registries, the US Renal Data System (USRDS) and the European Registry of patients on renal replacement therapy (ERA-EDTA), the estimated risk for cardiac events such as myocardial infarction is 3.5-50 times higher among HD patients than in the general population.^{2,3} In the last two decades, it has become evident that the increased frequency of CVD observed in HD patients is secondary to the combination of many traditional and novel and uremia-related risk factors.⁴

Leptin promotes atherosclerosis, thrombosis, and vascular smooth muscle cell proliferation and migration.⁵ In addition, clinical studies have demonstrated a significant correlation between leptin levels and hypertension, hyperlipidemia, perturbed fibrinolysis and chronic inflammation.^{6,7} Leptin levels are significantly higher in HD patients than in healthy subjects.^{8,9} Thus, it has been suggested that such high leptin levels may contribute to the increased cardiovascular risk of HD patients. The present study aimed at evaluating the relationship between serum leptin concentrations and the leptin/body mass index (BMI) ratio with prevalent CVD and their influence on all-cause and CVD-related mortality in ESRD patients undergoing maintenance HD.

METHODS

Patients and design

This is a prospective observational study in which we measured leptin levels and the leptin/BMI ratio and correlated with prevalent CVD and all-cause and CVD-related mortality. The study was performed in the Hemodialysis Units from the Università Cattolica del Sacro Cuore of Rome (Italy) and from the Hospital General of Segovia (Spain). Italian patients (n=53) were recruited in March 2004 (cohort 1). Spanish patients were recruited in two phases. A group of 38 patients were studied between 1998 and 2002 (cohort 2), and a second group of 27 patients were evaluated in April 2008 (cohort 3). Incident patients considered eligible and included in the study were evaluated after at least 6 months of hemodialytic treatment. Patients were followed until census date (December 31st, 2009), renal transplantation or death. Median time of follow-up was 24.7 (interquartile range 15.7-68.0) months. As expected, time of follow-up in cohort 3 (20.1 [20.1-20.4] months) was significantly ($P=0.002$) lower than those found in cohorts 1 (46.5 [15.0-76.3] months) and 2 (40.2 [12.3-73.7] months). The study was approved by the local ethics committees and written informed consent was obtained from all patients before enrollment in the study.

Hemodialysis

All patients were receiving conventional 4-hour hemodialysis, three times a week. The blood flow ranged from 250 to 400 ml/min with a dialysis rate flow of 500 ml/min. All patients were treated with high-permeability membranes. Most patients were taking recombinant human erythropoietin and antihypertensive medications.

Cardiovascular disease definition

Patients were stratified according to the presence of cardiovascular diseases. Patients defined as having prevalent CVD included those with a documented history of angina pectoris, myocardial infarction, stroke, coronary revascularization procedures, transient cerebral ischemia, peripheral artery surgery, and peripheral vascular disease.

Laboratory analyses

Serum leptin concentrations were measured by using a polyclonal antibody RIA raised in rabbits against highly purified recombinant human leptin (Linco Research, St Louis, MO, USA). The sensitivity for this leptin assay was 0.5 ng/ml, and the coefficients of variation intra- and interassay were 4.8% and 3.5%, respectively. The normal values of serum leptin concentrations in a group of healthy subjects, aged 28-70 years, was 10.0 (5.6-27.8) ng/ml. Other laboratory measurements were performed through certified methods in the Departments of Clinical Chemistry of the Università Cattolica del Sacro Cuore of Rome (Italy) and the Hospital General of Segovia (Spain).

Statistical analysis

For mean comparisons the Kruskal-Wallis non parametric test was used for non-normally distributed continuous variables and analysis of variance was used for normally distributed variables. Correlations were calculated with the Spearman correlation coefficient. Survival time was estimated by the Kaplan-Meier method, with the log-rank test used to compare arms. Multivariate Cox regression models were used to assess the independent effects of several quantitative and qualitative variables on the risk of death. Statistical significance was set at the level of $P<0.05$.

RESULTS

A total of 118 patients (50 women) were included in this study (table 1). Italian patients showed higher levels of leptin/BMI in comparison with Spanish patients.

Leptin and leptin/BMI ratio

The demographic, clinical and laboratory characteristics of patients stratified according to the leptin/BMI ratio are reported in table 2. In univariate analysis, the leptin/BMI ratio was positively correlated to total cholesterol ($\rho = 0.298$, $P = .001$) and creatinine ($\rho = .183$, $P = .047$). The multiple regression analysis confirmed that creatinine and total cholesterol were independent factors associated with the leptin/BMI ratio ($R^2 = .146$, $P = .015$).

Leptin/BMI and prevalent cardiovascular disease

Forty seven (39.8%) and 33 (27.9%) patients had prevalent CVD and coronary disease, respectively, at baseline. The prevalence of CVD and of ischemic heart disease at baseline was similar between patients with leptin/BMI under the median value and above the median value. The results of the multivariate logistic regression analysis showed that there was not an independent association between leptin/BMI ratio and CVD (table 3). Moreover, this multivariate analysis did not show a significant association between cohort and prevalent CVD.

Leptin/BMI and survival

During the follow-up period, 52 (44.1%) patients died. CVD was the cause of death in 27 out of 52 (51.9%) deceased

patients. The median serum leptin concentrations and the median leptin/BMI ratio was similar in patients who survived (18.0; 7.0-39.1 ng/ml, and 0.73; 0.29-1.50 ng·m²/ml·kg, respectively) and in those who died (12.0; 4.9-44.8 ng/ml, $P = .524$, and .49; .26-1.94 ng·m²/ml·kg; $P = .529$, respectively). No differences were found in serum leptin concentrations and leptin/BMI ratio between patients who died by CVD (9.6; 4.8-57.9 ng/ml, and .42; .25-1.99 ng·m²/ml·kg, respectively) and those who did not (16.1; 6.1-39.0 ng/ml, $P = .863$, and 0.68; 0.28-1.49 ng·m²/ml·kg, $P = .985$, respectively). We repeated this analysis in the three cohorts of studied patients and found that there were no significant relationships between leptin or leptin/BMI and mortality (data not shown).

Kaplan-Meier analysis (figure 1) showed that patients with leptin levels above the median values showed mean survival times for all-cause mortality and for CVD-related mortality which did not significantly differ from those found in patients with leptin concentrations under the median value. In a similar way, patients with leptin/BMI above the median values showed mean survival for all-cause mortality times and for CVD-related mortality similar to those found in patients with leptin/BMI under the median value.

We performed a Cox proportional hazards regression multivariate analysis including the covariate cohort because of the significant differences found among cohorts in leptin/BMI levels and mortality rates (table 1). This analysis

Table 1. Demographic, clinical and laboratory characteristic of the three cohorts of studied patients

Variable	Cohort 1 Italy 2004 (n = 53)	Cohort 2 Spain 1998 (n = 38)	Cohort 3 Spain 2008 (n = 27)	P
Age (yr)	62 (51-72)	64 (55-68)	73 (68-78)	0.001
Female sex	21 (39.6)	16 (42.1)	13 (48.1)	0.766
Duration of dialysis (mo)	36 (12-90)	31 (14-62)	35 (17-60)	0.995
Diabetes mellitus	7 (13.2)	10 (26.39)	10 (37.0)	0.033
Cardiovascular disease	18 (34.0)	16 (42.1)	13 (48.1)	0.444
Coronary artery disease	15 (28.3)	11 (28.9)	7 (25.9)	0.962
Hypertension	37 (69.8)	29 (76.3)	22 (81.5)	0.504
Body mass index (kg/m ²)	23.7 ± 3.8	25.2 ± 3.9	24.4 ± 4.3	0.197
Creatinine (mg/dl)	10.7 ± 2.6	9.2 ± 2.2	7.1 ± 1.5	<0.001
C-reactive protein (mg/l)	3.7 (2.2-8.4)	7.3 (2.7-18.3)	0.9 (0.3-1.7)	<0.001
Albumin (g/dl)	3.8 ± 0.3	3.9 ± 0.4	3.7 ± 0.3	0.060
Total cholesterol (mg/dl)	154 (130-185)	178 (137-199)	142 (128-179)	0.023
Leptin (ng/ml)	23.4 (7.0-64.2)	9.7 (4.7-31.9)	12.3 (5.8-31.1)	0.113
Leptin/BMI (ng·m ² /ml·kg)	1.02 (0.34-2.55)	0.39 (0.22-1.17)	0.51 (0.25-1.17)	0.044
All-cause deaths	23 (43.4)	24 (63.2)	5 (18.5)	0.002
CVD deaths	15 (28.3)	11 (28.9)	1 (3.7)	0.016

Data are presented as number of patients (percentage), median (interquartile range) or mean ± SD.

Table 2. Demographic, clinical and laboratory characteristic of the patients included in the study stratified according to the leptin/BMI ratio

Variable	All patients (n = 118)	Leptin/BMI <median (n = 59)	Leptin/BMI >median (n = 59)
Age (yr)	65.1 (54.7-72.2)	64.2 (54.0-72.5)	66.0 (56.0-72.0)
Female sex	50 (42.4)	15 (25.4)	35 (59.3) ^c
Primary cause of ESRD:			
Hypertension	21	11	10
Glomerulonephritis	22	10	12
Diabetes	23	7	16
Interstitial nephritis	9	5	4
Polycystic renal disease	9	7	2
Unknown	22	14	8
Other etiologies	12	5	7
Duration of dialysis (mo)	36.0 (12.9-61.5)	28.9 (12.0-71.4)	36.0 (15.0-60.8)
Diabetes mellitus	27 (22.8)	9 (15.3)	18 (30.5) ^a
Cardiovascular disease	47 (39.8)	25 (42.4)	22 (37.3)
Coronary artery disease	33 (27.9)	16 (27.1)	17 (28.8)
Hypertension	88 (74.6)	47 (79.7)	41 (69.5)
Body mass index (kg/m ²)	24.3±3.9	22.8±3.4	25.8±4 ^c
Creatinine (mg/dl)	9.38 ± 2.66	8.96 ± 2.64	9.80 ± 2.63
C-reactive protein (mg/l)	3.82 (1.2-8.3)	4.63 (1.26-10.79)	2.95 (0.96-7.52)
Albumin (g/dl)	3.83 ± 0.33	3.82 ± 0.36	3.83 ± 0.30
Total cholesterol (mg/dl)	153 (134-188)	145 (128-179)	176 (141-192) ^b

Data are presented as number of patients (percentage), median (interquartile range) or mean ± SD.

^aP <.05; ^b P <.001; ^c P <.001.

showed that leptin/BMI was not an independent risk factor for all-cause and CVD-related mortality (table 4).

DISCUSSION

Our results show that there is no significant relationship between serum leptin or the leptin/BMI ratio and the presence of CVD or coronary artery disease at baseline. Moreover, our follow-up data also show a lack of relationship between serum leptin or the leptin/BMI ratio and all-cause and cardiovascular mortality. Our cross-sectional data are in agreement with our previous study that showed that leptin/BMI was not related to prevalent CVD.¹⁰ On the contrary, our longitudinal study results clearly differ from those reported by Scholze et al.¹¹ Discrepancies may be accounted for by differences in the genetic background of studied patients, confounding influences of covariates, and different laboratory procedures. Furthermore, we used leptin values corrected by BMI because leptin is a sensor of body fat mass and a correlation between leptin levels and BMI has been demonstrated both in healthy subjects¹² and in uremic patients.¹⁰

Leptin increases sympathetic activity,¹³ promotes vascular smooth muscle cells proliferation, increases oxidative stress and has prothrombotic activity.⁵ Furthermore, leptin has been related to coronary artery calcification in type 2 diabetic patients¹⁴ and with several CV risk factors and vascular dysfunction in humans.¹⁵ The WOSCOP study¹⁶ have reported an association between leptin and the risk of CVD. However, a recent meta-analysis showed only a moderate association between leptin levels and the risk of coronary heart disease, which is largely dependent of BMI.¹⁷ In agreement with this we could not demonstrate any significant association of leptin/BMI with CVD mortality.

A possible explanation to the lack of relationship between leptin and mortality in HD patients might be found in the reverse epidemiology of the cardiovascular risk factors which is frequently observed in patients with ESRD.¹⁸ Numerous reports have suggested that an increase in BMI is correlated with an increased survival in HD patients.^{19,20} In fact, recent European guidelines consider that BMI under 23 kg/m² is suggestive of malnutrition in HD patients.²¹ In this context, high leptin levels can be considered as a marker of overnutrition and, therefore, associated to a favourable

Table 3. Multivariate logistic regression analysis showing the influence of several qualitative and quantitative variables on the presence of CVD at the time of inclusion in the study

Independent Variables	Odds ratio	95% CI	P value
Age (yr)	1.08	1.03-1.13	0.001
Diabetes	6.41	2.08-19.77	0.001
Hypertension	3.45	1.14-10.44	0.028
Leptin/BMI (ng·m ² /ml·kg)	1.04	0.76-1.43	0.802
Cohort Spain 1998	1.15	0.41-3.26	0.789
Cohort Spain 2008	0.58	0.16-2.02	0.390

Data are odds ratios and 95% confidence intervals.

prognosis. Another possible explanation is that the actions of leptin on the cardiovascular system are not always detrimental. For example, although elevated leptin levels have been associated with poor vascular compliance in adolescents¹⁵ and impaired coronary vasoreactivity in otherwise healthy young obese subjects,²² some evidences suggest that leptin may have both vasoconstrictor and vasodilator effects through endothelium-dependent

mechanisms.²³ Lastly, it is also conceivable that the prognostic value of serum leptin is different in the general population than in dialysis patients, as it has been suggested for adiponectin.²⁴

Our study has some strengths and limitations. First, this is the first multicenter study assessing leptin values in HD patients and is also the first study that analyzes corrected

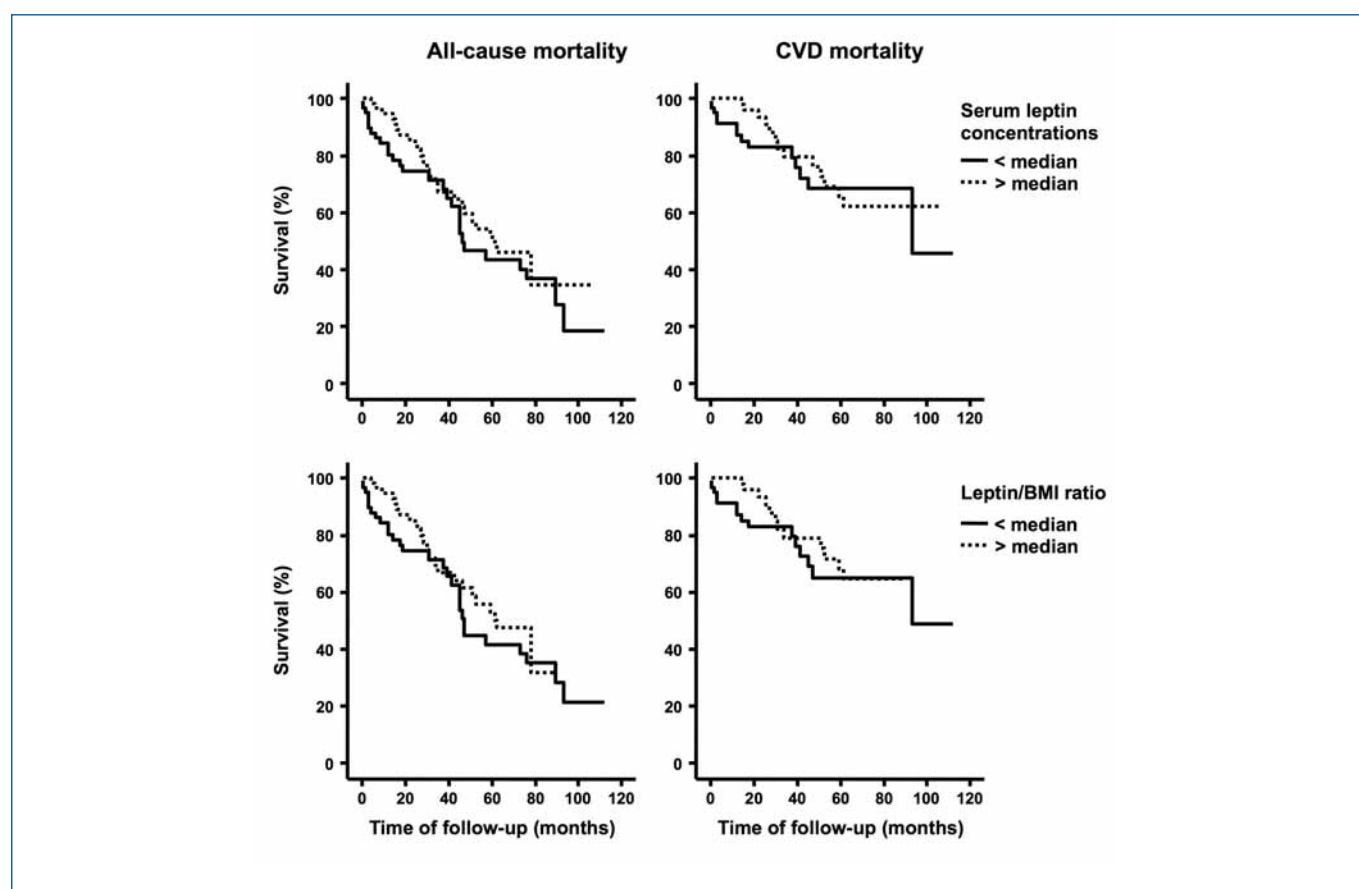
**Figure 1.** Kaplan-Meier survival analysis for all-cause mortality (left panels) and CVD-related mortality (right panels) in 118 HD patients stratified according to the serum leptin concentrations (upper panels) and the leptin/BMI ratio (lower panels).

Table 4. Multivariate Cox regression analysis for all-cause and cardiovascular disease-related mortality

Covariates	All-cause Mortality		CVD Mortality	
	Hazard ratio (95% C.I.)	P value	Hazard ratio (95% CI)	P value
Sex	1.66 (0.81-3.40)	0.170	1.77 (0.61-5.17)	0.297
Age (yr)	1.03 (0.99-1.06)	0.108	1.04 (0.99-1.10)	0.147
Diabetes	3.11 (1.45-6.66)	0.004	6.33 (2.09-19.20)	0.001
Hypertension	0.33 (0.16-0.68)	0.003	0.24 (0.08-0.72)	0.011
Cardiovascular disease	3.36 (1.66-6.70)	0.001	8.29 (2.63-26.15)	<0.001
Leptin/BMI (ng·m ² /ml·kg)	0.90 (0.71-1.14)	0.392	0.80 (0.54-1.17)	0.239
Cohort Spain 1998	1.24 (0.65-2.37)	0.510	0.74 (0.27-1.98)	0.545
Cohort Spain 2008	0.48 (0.14-1.60)	0.231	0.06 (0.01-0.66)	0.022

For categorical variables, reference hazard ratio (HR = 1) for female sex, absence of diabetes, hypertension and cardiovascular disease, and cohort Italy 2004.

leptin values in relation to all-cause and CVD-related mortality in these patients. A limitation of our study comes from the fact that classification of cardiovascular disease was made on the basis of clinically manifest event, and therefore the true prevalence of atherosclerotic disease may be underestimated. We could not correct leptin concentrations by fat mass, although we did correct for BMI values. Another limitation is its low statistical power and the fact that we studied three cohorts of patients at three different baseline times and, therefore, with different times of follow-up and mortality rates, and also with differences in some clinical and biochemical characteristics. In fact, in comparison with cohorts 1 and 2, cohort 3 patients had older age, higher proportion of diabetes and lower levels of creatinine and cholesterol. All-cause and CVD mortality was lower in cohort 3, a fact in direct relationship with the lower follow-up period in this cohort. However, laboratory procedures for leptin measurement and clinical protocols for patients follow-up were the same. Furthermore, survival analysis performed in the three cohorts of patients separately did not show any significant relationship between leptin/BMI and all-cause or cardiovascular mortality.

The clinical corollary of our study would be stopping the qualification of leptin as a cardiovascular risk factor in HD patients. In a similar way, leptin has been considered by some authors as a causal factor of cachexia in uremic patients. However, previous data from our group showed not only a correlation between leptin and BMI, but also a direct relationship between this hormone and albumin, transferrin and cholesterol.^{10,25,26} Besides, our patients with anorexia exhibited low, rather than high, serum leptin levels.²⁶

In conclusion, in this population of stable HD patients, obtained results do not support the hypothesis that serum

leptin and leptin/BMI ratio are related with prevalent CVD and are risk factors for all-cause and cardiovascular mortality.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENTS

R. Selgas has received a non-restricted grant by Baxter to support part of this investigation.

Acknowledgements

The authors are especially indebted to the nurses of our dialysis units for their collaboration. This study has been partially supported by grants by Baxter (Extramural Grant Program, 2008), ISCIII by support to RS (PS 09/00641) and Rio Hortega Grant (2009) for EG. Several authors are integrated in REDinREN (RETICS 06/0016 from ISCIII,) supported by FEDER European Funds.

REFERENCES

1. Rucker D, Tonelli M. Cardiovascular risk and management in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2009;5:287-96.
2. Brunner FP, Selwood NH on behalf of the EDTA Registry Committee. Profile of patients on RRT in Europe and death rates due to major causes of death groups. *Kidney Int* 1992;42:S4-15.
3. Locatelli F, Manzoni C, Del Vecchio L, Di Filippo S. Changes in United States Renal Data System, 2006.
4. Herzog CA. Sudden cardiac death and acute myocardial infarction in dialysis patients: perspectives of a cardiologist. *Semin Nephrol* 2005;25:363-6.

5. Bodary PF, Gu S, Shen Y, Hasty AH, Buckler JM, Eitzman DT. Recombinant leptin promotes atherosclerosis and thrombosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:e119-22.
6. Nakamura Y, Ueshima H, Okuda N, Murakami Y, Miura K, Kita Y, et al. Relation of serum leptin to blood pressure of Japanese in Japan and Japanese-Americans in Hawaii. *Hypertension* 2009;54:1416-22.
7. Bullo M, García-Lorda P, Megias I, Salas-Salvadó J. Systemic inflammation, adipose tissue, tumor necrosis factor and leptin expression. *Obes Res* 2003;11:525-31.
8. Heimbürger O, Lönngqvist F, Danielsson A, Nordenström J, Stenvinkel P. Serum immunoreactive leptin concentration and its relation to the body fat content in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:1423-30.
9. Bossola M, Muscaritoli M, Valenza V, Panocchia N, Tazza L, Cascino A, et al. Anorexia and serum leptin levels in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 2004;97:c76-82.
10. Díez JJ, Iglesias P, Fernández-Reyes MJ, Aguilera A, Bajo MA, Álvarez-Fidalgo P, et al. Serum concentrations of leptin, adiponectin and resistin, and their relationship with cardiovascular disease in patients with end-stage renal disease. *Clin Endocrinol* 2005;62:242-9.
11. Scholze A, Rattensperger D, Zidek W, Tepel M. Low serum leptin predicts mortality in patients with chronic kidney disease stage 5. *Obesity (Silver Spring)* 2007;15:1617-22.
12. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996;334:292-5.
13. Ekelis N, Lambert G, Wiesner G, Kaye D, Schlaich M, Morris M, et al. Extra-adipocyte leptin release in human obesity and its relation to sympathoadrenal function. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;286:E744-52.
14. Reilly MP, Iqbal N, Schutta M, Wolfe ML, Scally M, Localio AR, et al. Plasma leptin levels are associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3872-8.
15. Singhal A, Farooqi IS, Cole TJ, O'Rahilly S, Fewtrell M, Kattenhorn M, et al. Influence of leptin on arterial distensibility: a novel link between obesity and cardiovascular disease? *Circulation* 2002;106:1919-24.
16. Wallace AM, McMahon AD, Packard CJ, Kelly A, Shepherd J, Gaw A, et al. Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the west of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Circulation* 2001;104:3052-6.
17. Sattar N, Wannamethee G, Sarwar N, Chernova J, Lawlor DA, Kelly A, et al. Leptin and coronary heart disease. Prospective study and systematic review. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:167-75.
18. Kalantar-Zadeh K, Block G, Humphreys MH, Kopple JD. Reverse epidemiology of cardiovascular risk factors in maintenance dialysis patients. *Kidney Int* 2003;63:793-808.
19. Abbott KC, Glanton CW, Trespalacios FC, Oliver DK, Ortiz MI, Agodoa LY, et al. Body mass index, dialysis modality, and survival: analysis of the United States Renal Data System Dialysis Morbidity and Mortality Wave II Study. *Kidney Int* 2004;65:597-605.
20. Liu Y, Coresh J, Eustace JA, Longenecker JC, Jaar B, Fink NE, et al. Association between cholesterol level and mortality in dialysis patients: role of inflammation and malnutrition. *JAMA* 2004;291:451-9.
21. Fouque D, Vennegoor M, Ter Wee P, Wanner C, Basci A, Canaud B, et al. EBP Guideline on nutrition. *Nephrol Dial Transplant* 2007;Suppl. 2:ii45-87.
22. Sundell J, Huupponen R, Raitakari OT, Nuutila P, Knuuti J. High serum leptin is associated with attenuated coronary vasoreactivity. *Obes Res* 2003;11: 776-82.
23. Vecchione S, Maffei A, Colella S, Aretini A, Poulet R, Frati G, et al. Leptin effect on endothelial nitric oxide is mediated through Akt-endothelial nitric oxide synthase phosphorylation pathway. *Diabetes* 2002;51:168-73.
24. Díez JJ, Estrada, Bajo MA, Fernández-Reyes MJ, Grande C, Del Peso G, et al. High stable serum adiponectin levels are associated with a better outcome in prevalent dialysis patients. *Am J Nephrol* 2009;30:244-52.
25. Iglesias P, Díez JJ, Fernández-Reyes MJ, Bajo MA, Aguilera A, Méndez J, et al. Effects of short-term recombinant human growth hormone therapy on plasma leptin concentrations in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:260-4.
26. Aguilera A, Bajo MA, Rebollo F, Díez JJ, Díaz C, Paiva A, et al. Leptin as a marker of nutrition and cardiovascular risk in peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial* 2002;18:212-7.

Artículo 5

“Análisis repetido de la resistencia insulínica estimada mediante índice HOMA-IR en pacientes no diabéticos en diálisis peritoneal y su relación con la enfermedad cardiovascular y mortalidad”.

“Análisis repetido de la resistencia insulínica estimada mediante índice HOMA-IR en pacientes no diabéticos en diálisis peritoneal y su relación con la enfermedad cardiovascular y mortalidad”

Rafael Sánchez-Villanueva, Patricia Estrada, Gloria Del Peso, Cristina Grande, Juan J. Díez, Pedro Iglesias, Elena González, Ana Aguilar-Rodríguez, Rafael Selgas, M. Auxiliadora Bajo.

Nefrología.2013;33:85-92.

Factor de impacto: 1,207

Este trabajo responde al objetivo 3

INTRODUCCIÓN

Los pacientes con enfermedad renal crónica terminal muestran resistencia insulínica (RI), caracterizada por alteraciones en el metabolismo hidrocarbonado e hiperinsulinemia generalmente asociada a dislipemia y a un patrón pro-inflamatorio. La enfermedad CV constituye la principal causa de mortalidad en los pacientes en diálisis. Existe una fuerte asociación entre RI, hiperinsulinismo y enfermedad CV.

OBJETIVOS

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la DP sobre la RI y sus efectos sobre la morbilidad CV subsiguiente en pacientes urémicos no diabéticos.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se incluyeron 69 pacientes no diabéticos en DP, 35 incidentes (≤ 3 meses en DP) y 34 prevalentes (> 3 meses en DP), con 2 mediciones de resistencia

insulínica estimada mediante el índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR), separadas entre sí por 12 meses.

RESULTADOS

El valor medio de HOMAIR en pacientes incidentes fue $1,8 \pm 1,3$ y $2,2 \pm 2,1$ en situación basal y a los 12 meses, respectivamente (no significativa [ns]). En pacientes prevalentes estos valores fueron $2,3 \pm 1,3$ y $2,5 \pm 2,2$ (ns). En nuestro estudio, las concentraciones medias de glucosa, insulina y RI medida por el HOMA-IR y QUICKI (índice cuantitativo de control de la sensibilidad a la insulina) fueron similares en situación basal y al año de seguimiento, tanto en incidentes como en prevalentes. No objetivamos diferencias significativas en relación con la comorbilidad CV, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca o comorbilidad vascular cerebral o periférica, ni en función del índice HOMA-IR, ni en el de los niveles de insulina.

CONCLUSIONES

Los pacientes no diabéticos en DP no presentan elevación significativa de los niveles de HOMA-IR, ni se modifican tras un año de tratamiento dialítico, lo que sugiere que la DP no es un factor de riesgo de RI. El hecho de que los índices de RI no se asocien a morbilidad o mortalidad CV parece sugerir el menor peso de este factor en el ámbito de la DP.

Análisis repetido de la resistencia insulínica estimada mediante índice HOMAIR en pacientes no diabéticos en diálisis peritoneal y su relación con la enfermedad cardiovascular y mortalidad

Rafael Sánchez-Villanueva¹, Patricia Estrada¹, Gloria del Peso¹, Cristina Grande², Juan J. Díez³, Pedro Iglesias³, Elena González¹, Ana Aguilar-Rodríguez¹, Rafael Selgas¹, M. Auxiliadora Bajo¹, Grupo de Estudios Peritoneales de Madrid de REDINREN (Red Renal de Investigación de la RETICS 06/0016, del Instituto de Salud Carlos III) y del IRSIN (Instituto Reina Sofía de Investigación Nefrológica)

¹ Servicio de Nefrología. Hospital Universitario La Paz. Madrid

² Servicio de Bioquímica. Hospital Universitario La Paz. Madrid

³ Servicio de Endocrinología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Nefrología 2013;33(1):85-92

doi:10.3265/Nefrologia.pre2012.Nov.11430

RESUMEN

Los pacientes con enfermedad renal crónica terminal muestran precozmente resistencia insulínica (RI), caracterizada por alteraciones en el metabolismo hidrocarbonado e hiperinsulinemia generalmente asociada a dislipemia y a un patrón pro inflamatorio. La enfermedad cardiovascular (CV) constituye la principal causa de mortalidad en los pacientes en diálisis. Existe una fuerte asociación entre RI, hiperinsulinismo y enfermedad CV. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la diálisis peritoneal (DP) sobre la RI y sus efectos sobre la morbimortalidad CV subsiguiente en pacientes urémicos no diabéticos. Se incluyeron 69 pacientes no diabéticos en DP, 35 incidentes (≤ 3 meses en DP) y 34 prevalentes (> 3 meses en DP), con 2 mediciones de resistencia insulínica estimada mediante el índice de resistencia a la insulina (HOMAIR), separadas entre sí por 12 meses. El valor medio de HOMAIR en pacientes incidentes fue $1,8 \pm 1,3$ y $2,2 \pm 2,1$ en situación basal y a los 12 meses, respectivamente (no significativa [ns]). En pacientes prevalentes estos valores fueron $2,3 \pm 1,3$ y $2,5 \pm 2,2$ (ns). En nuestro estudio, las concentraciones medias de glucosa, insulina y RI medida por el HOMAIR y QUICKI (índice cuantitativo de control de la sensibilidad a la insulina) fueron similares

en situación basal y al año de seguimiento, tanto en incidentes como en prevalentes. No objetivamos diferencias significativas en relación con la comorbilidad CV, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca o comorbilidad vascular cerebral o periférica, ni en función del índice HOMAIR, ni en el de los niveles de insulina. En conclusión, los pacientes no diabéticos en DP no presentan elevación significativa de los niveles de HOMAIR, ni se modifica con paso del tiempo en diálisis, lo que sugiere que la DP no es un factor de riesgo de RI. El hecho de que los índices de RI no se asocien a morbilidad o mortalidad CV parece sugerir el menor peso de este factor en el ámbito de la DP.

Palabras clave: Enfermedad renal crónica. Diálisis peritoneal. Resistencia a la insulina. Índice HOMAIR. Índice QUICKI. Enfermedad cardiovascular. Mortalidad.

Repeated analysis of estimated insulin resistance using the HOMAIR index in nondiabetic patients on peritoneal dialysis and its relationship with cardiovascular disease and mortality

ABSTRACT

Terminal chronic renal failure patients show early insulin resistance (IR), characterised by alterations in the hydrocarbon metabolism and hyperinsulinaemia generally associated with dyslipidaemia and a proinflammatory condition. Cardiovascular disease (CVD) is the main cause of

Correspondencia: Rafael Sánchez Villanueva
Servicio de Nefrología.
Hospital Universitario La Paz.
P.º de la Castellana, 261. 28046 Madrid.
rjsanchez.hulp@salud.madrid.org

mortality in patients on dialysis. There is a strong association between IR, hyperinsulinism and CV disease. The objective of this study was to evaluate the effect of peritoneal dialysis (PD) on IR and its effects on the subsequent CVD morbidity and mortality in nondiabetic uraemic patients. It involved 69 nondiabetic patients on PD, 35 incident patients (≤ 3 months on PD) and 34 prevalent patients (> 3 months on PD), with 2 estimated insulin resistance measurements 12 months apart using the insulin resistance index (HOMAIR). The mean HOMAIR value in incident patients was 1.8 ± 1.3 and 2.2 ± 2.1 at baseline situation and at 12 months respectively (not significant [NS]). In prevalent patients these values were 2.3 ± 1.3 and 2.5 ± 2.2 (NS). In our study, the mean glucose, insulin and IR concentrations measured by the HOMAIR and QUICKI indexes (the latter being a quantitative control for insulin sensitivity control) were similar at baseline situation and the following year, in both incident and prevalent patients. We did not find any significant differences in relation to CVD comorbidity, ischaemic heart disease, heart failure or cerebrovascular or peripheral comorbidity neither in the HOMAIR index or insulin levels. To conclude, nondiabetic patients on PD do not display a significant increase in HOMAIR levels and this remains the case over time when on dialysis.

Keywords: Chronic kidney disease. Peritoneal dialysis. Insulin resistance. HOMAIR Index. QUICKI Index. Cardiovascular disease. Mortality.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad cardiovascular (CV) constituye la principal causa de mortalidad en los pacientes en diálisis^{1,2}. La asociación entre resistencia periférica a la insulina (RI), hiperinsulinismo y enfermedad CV se conoce por numerosos estudios transversales y prospectivos¹⁻⁴. De hecho, el hiperinsulinismo se considera un buen marcador de RI en sujetos sin hiperglucemia significativa. Además, la RI se asocia a varios factores de riesgo de enfermedad CV como dislipemia³, hipertensión arterial⁵ e hipercoagulabilidad².

Los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) terminal muestran precozmente RI, caracterizada por alteraciones en el metabolismo hidrocabonado con hiperinsulinemia que, generalmente, se asocia a dislipemia y a un patrón pro inflamatorio con niveles séricos alterados de adipocitoquinas⁶. Numerosos estudios han demostrado que la RI se asocia posiblemente a un proceso inflamatorio sistémico silente y a un proceso microinflamatorio caracterizado por la activación de células periféricas como polimorfonucleares o monocitos⁷. La consecuencia final es una elevada prevalencia de aterosclerosis con alta morbimortalidad de origen CV⁸.

Nuestra hipótesis de trabajo se basa en la posibilidad de que la glucosa de las soluciones de diálisis peritoneal (DP) pueda

incrementar la RI, a través de un efecto mediado por adipocitoquinas, y contribuir a acelerar el proceso de aterosclerosis del estado urémico. Por lo tanto, los objetivos del presente estudio fueron:

1. Evaluar la presencia de RI en pacientes incidentes y prevalentes no diabéticos tratados con DP.
2. Analizar la evolución de los índices de RI tras 1 año de tratamiento con DP.
3. Evaluar el efecto de la RI sobre la morbimortalidad CV subsiguiente.

PACIENTES Y MÉTODOS

Pacientes

El diseño del estudio es prospectivo y observacional sobre una cohorte de pacientes incidentes y prevalentes tratados con DP. Se incluyeron 69 pacientes no diabéticos en DP, 35 incidentes (≤ 3 meses en DP) y 34 prevalentes (> 3 meses en DP), 58 % con diálisis peritoneal automatizada y 42 % con diálisis peritoneal continua ambulatoria, con 2 mediciones de resistencia insulínica estimada mediante el índice de resistencia a la insulina (HOMAIR), separadas entre sí 12 meses. El propósito de esta doble observación fue comprobar la reproducibilidad, potenciales cambios de situación derivados de la propia DP y la influencia de todo ello sobre la aparición de eventos CV y mortalidad.

Se excluyeron pacientes con neoplasia activa, infecciones agudas, enfermedad inflamatoria crónica no controlada o sintomática, o glucemia basal > 140 mg/dl.

Las causas de enfermedad renal fueron glomerulonefritis en 21 (30,4 %), nefroangioesclerosis o vascular en 8 (11,6 %), otras causas en 8 (11,6 %), enfermedad poliquística en 7 (10,1 %), enfermedad sistémica en 7 (10,1 %), causa no conocida en 7 (10,1 %), pielonefritis crónica en 5 (7,2 %), nefropatía intersticial en 5 (7,2 %) y hereditaria en 1 (1,4 %).

En el momento de la primera medición de RI se consideró el tiempo basal y el comienzo del seguimiento para el análisis de supervivencia.

La comorbilidad fue evaluada según el índice de Charlson modificado por Beddhu⁹.

PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO

Las determinaciones analíticas se realizaron basalmente y al año de evolución, tras 12 horas de ayuno y manteniendo su pauta habitual de DP. También se recogieron parámetros dia-

líticos, como Kt/V de urea semanal e índice de catabolismo proteico (nPNA).

La insulina se cuantificó por un método enzimoinmunométrico doble en el autoanalizador AIA 360 (Tosoh Bioscience). El coeficiente de variación intra e interensayo fue de 1,7 y 3,3 %, respectivamente. La sensibilidad del ensayo fue 1 μ U /ml. El rango normal de insulina en nuestro laboratorio fue de 2 a 17 μ U /ml

Con los datos de glucemia e insulinemia basales se calculó el índice HOMAIR, según la fórmula de Matthews et al.¹⁰: $HOMAIR = \text{glucosa (mmol/l)} \times \text{insulina } (\mu\text{U/ml}) / 22,5$. Además se calculó el índice cuantitativo de control de la sensibilidad a la insulina (QUICKI) de acuerdo con Hrebicek et al.¹¹: $QUICKI = 1 / [\log \text{ de insulina en ayunas (mU/l)} - \log \text{ de glucemia en ayunas (mg/dl)}]$.

Definiciones

Enfermedad coronaria: antecedentes de angor, infarto de miocardio, evidencia coronariográfica, intervención percutánea o *by-pass* coronario.

Insuficiencia cardíaca congestiva: clasificación de la New York Heart Association (NYHA)¹²:

- Clase funcional I: actividad habitual sin síntomas. No hay limitación de la actividad física.
- Clase funcional II: el paciente tolera la actividad habitual, pero existe una ligera limitación de la actividad física, apareciendo disnea con esfuerzos intensos.
- Clase funcional III: la actividad física que el paciente puede realizar es inferior a la habitual, está notablemente limitado por la disnea.
- Clase funcional IV: el paciente tiene disnea al menor esfuerzo o en reposo, y es incapaz de realizar cualquier actividad física.

Enfermedad arterial periférica: pacientes con claudicación intermitente, *by-pass* arterial, amputación, gangrena o insuficiencia arterial aguda, aneurismas de aorta torácica o abdominal no reparados mayores de 5 cm.

Enfermedad vascular cerebral: pacientes con antecedentes de accidentes cerebrovasculares o accidentes isquémicos transitorios (con mediana o nula secuela).

Dislipidemia: presencia de uno o más de los siguientes criterios¹³: 1) colesterol LDL (colesterol ligado a lipoproteínas de densidad baja) ≥ 100 mg/dl; 2) colesterol no-HDL (colesterol no ligado a lipoproteínas de densidad alta) ≥ 130 mg/dl; 3)

triglicéridos ≥ 150 mg/dl; 4) colesterol-HDL ≤ 40 mg/dl; y 5) uso de uno o más hipolipemiantes.

Hipertensión: la presión arterial (PA) fue medida con el monitor digital (HEM-907) con manguitos adaptados a la circunferencia del brazo después de que el sujeto reposara en posición supina durante al menos 5 minutos. El diagnóstico de hipertensión se realizaba cuando un sujeto presentaba uno o más de los siguientes criterios¹⁴: 1) PA sistólica ≥ 135 mmHg; 2) PA diastólica ≥ 85 mmHg; y 3) uso de uno o más antihipertensivos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores se expresan como media (\pm desviación estándar) y porcentajes. Las proporciones se compararon con el test χ^2 y las medias con la t de distribución normal y U de Mann-Whitney y Wilcoxon para las variables cuantitativas no paramétricas. El análisis de regresión lineal se realizó con los coeficientes de correlación de Pearson y Spearman. Para el análisis de supervivencia se empleó el método de Kaplan-Meier, y las curvas se compararon con el método *log-rank*. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

RESULTADOS

En la tabla 1 se exponen las características clínicas basales de los dos grupos de pacientes, clasificados según tiempo previo en DP (incidentes y prevalentes). No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos.

El tiempo medio de seguimiento en DP fue de $32,1 \pm 16,0$ meses (rango: 11-87).

En la tabla 2 se reflejan los parámetros de diálisis, datos analíticos e índices de resistencia a la insulina (HOMAIR y QUICKI), en situación basal y a los 12 meses de seguimiento. Solo se observaron diferencias estadísticamente significativas en la función renal residual, colesterol total y colesterol LDL.

El porcentaje de utilización de icodextrina en pacientes incidentes al inicio fue de 60 % y a los 12 meses de 57,1 %, mientras que en pacientes prevalentes fue de 73,5 % en ambos casos.

HOMAIR e insulina basal

Cuando se clasificaron los pacientes en función de la mediana del HOMAIR basal (HOMAIR, 1,7, rango: 0,29), observamos que los pacientes incidentes con el HOMAIR más elevado tenían niveles de calcio total y calcio iónico significativamente más altos, comparados con los que presentaban valores de HOMAIR más bajos. En los pacientes prevalentes no se encontraron diferencias significativas (tabla 3). Al distribuir los pacientes según la me-

Tabla 1. Características basales de los pacientes en diálisis peritoneal incidentes y prevalentes

	Pacientes incidentes (≤ 3 meses) (n = 35)	Pacientes prevalentes (> 3 meses) (n = 34)	p
Edad (años)	52,7 ± 16,7 ^a	47,9 ± 18,3 ^a	ns
Sexo (V/M)	19/16	17/17	ns
Peso (kg)	66,3 ± 11,7 ^a	65,5 ± 11,3 ^a	ns
IMC (kg/m ²)	24,5 ± 4,4 ^a	24,7 ± 4,3 ^a	ns
Tiempo previo en diálisis peritoneal (meses)	1,7 ± 0,5 ^a	24,7 ± 27,4 ^a	0,0001
Índice de Charlson sin edad	3,5 ± 1,6 ^a	3,1 ± 1,4 ^a	ns
Hipertensión arterial	34 (97,1 %)	29 (85,3 %)	ns
Hipercolesterolemia	18 (51,4 %)	18 (52,9 %)	ns
Hipertrigliceridemia	3 (8,6 %)	5 (14,7 %)	ns
Enfermedad cardiovascular	13 (37,2 %)	8 (23,5 %)	ns
Cardiopatía isquémica	6 (17,1 %)	2 (5,8 %)	ns
Insuficiencia cardíaca	8 (22,8 %)	6 (17,6 %)	ns
Enfermedad vascular cerebral	3 (8,6 %)	2 (5,9 %)	ns
Enfermedad vascular periférica	5 (14,3 %)	2 (5,9 %)	ns

IMC: índice de masa corporal; ns: no significativa; M: mujer; V: varón.

Valores expresados como número absoluto y porcentaje. ^a Valores expresados como media ± desviación estándar.

diana de la insulinemia (7,0, rango: 2-25), los hallazgos fueron similares a los anteriores.

No encontramos diferencias en el índice HOMAIR ni en el QUICKI en función de las diferentes concentraciones de glucosa de las soluciones de diálisis peritoneal, tanto basalmente como al año (datos no mostrados).

Análisis de comorbilidad

Cuando analizamos los pacientes con HOMAIR basal según el valor de la mediana, no encontramos diferencias estadísticamente significativas en relación con la comorbilidad CV, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca o comorbilidad vascular cerebral y periférica. Estos resultados se repi-

Tabla 2. Parámetros de diálisis, datos analíticos e índices de resistencia periférica a la insulina en pacientes en diálisis peritoneal, basal y al año de seguimiento

Pacientes	Basal	12 meses	p
Kt/V urea	2,4 ± 0,6	2,3 ± 0,56	ns
nPNA (g/kg/d)	1,2 ± 0,4	1,1 ± 0,3	ns
Función renal residual (ml/min/1,73 m ²)	3,7 ± 3,9	2,1 ± 2,8	0,000
Hemoglobina (g/dl)	11,6 ± 1,5	11,8 ± 1,5	ns
Fibrinógeno (mg/dl)	364,5 ± 323,3	351,5 ± 363,1	ns
Colesterol total (mg/dl)	194,2 ± 60,3	169,9 ± 52,2	0,000
Colesterol HDL (mg/dl)	48,2 ± 15,31	46,3 ± 13,7	ns
Colesterol LDL (mg/dl)	94,8 ± 37,2	65,1 ± 33,0	0,023
Triglicéridos (mg/dl)	124,5 ± 58,7	123,01 ± 56,3	ns
Glucemia basal (mg/dl)	93,7 ± 14,3	95,01 ± 19,2	ns
Insulina (μU/ml)	8,5 ± 5,0	9,7 ± 7,9	ns
HOMAIR	2,0 ± 1,3	2,4 ± 2,1	ns
QUICKI	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	ns

Valores expresados como media ± desviación estándar.

HDL: lipoproteínas de alta densidad; HOMAIR: índice de resistencia a la insulina; LDL: lipoproteínas de baja densidad; nPNA: índice de catabolismo proteico; QUICKI: índice cuantitativo de control de la sensibilidad a la insulina.

Tabla 3. Comparación de los datos analíticos basales según los valores de la mediana del HOMAIR (mediana: 1,7, rango: 6-29)

Parámetros basales	Pacientes incidentes (n = 35)			Pacientes prevalentes (n = 34)		
	HOMAIR < mediana	HOMAIR > mediana	p	HOMAIR < mediana	HOMAIR > mediana	p
Tensión arterial sistólica (mmHg)	126,5 ± 16,4	141,9 ± 30,7	ns	130,8 ± 13,7	136,7 ± 12,2	ns
Triglicéridos (mg/dl)	104 ± 51,3	119,5 ± 41,3	ns	123,47 ± 43,7	154,1 ± 50,7	ns
Fibrinógeno (mg/dl)	473,8 ± 301,2	276,5 ± 304,4	ns	357,2 ± 354,3	385,1 ± 313,3	ns
Calcio total (mg/dl)	8,9 ± 1,2	10,2 ± 1,2	0,005	9,9 ± 1,1	9,8 ± 0,7	ns
Calcio iónico (mmol/l)	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,2	0,020	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	ns
Fósforo (mg/dl)	5,5 ± 1,4	5,3 ± 1,3	ns	5,7 ± 1,6	5,2 ± 0,9	ns
PTH intacta (pg/ml)	311,1 ± 468,7	150 ± 150,6	ns	358,1 ± 533,1	147,9 ± 139,2	ns

Valores expresados como media ± desviación estándar.

HOMAIR: índice de resistencia a la insulina; PTH: hormona paratiroidea.

ten cuando realizamos el análisis en función de la mediana de la insulina basal.

En relación con el índice de Charlson sin edad, la comorbilidad de los pacientes con HOMAIR por encima y por debajo de la mediana fue similar ($3,2 \pm 1,6$ vs. $3,4 \pm 1,3$, no significativa).

La existencia de enfermedad CV previa no influyó de manera significativa en los niveles de HOMAIR.

Análisis de supervivencia

Dieciocho pacientes (26 %) murieron durante el seguimiento, siendo el origen vascular la causa más frecuente de mortalidad (n = 5, 27,8 %), seguida por la causa cardíaca (n = 4, 22,2 %), infecciosa (n = 4, 22,2 %), deterioro (n = 2, 11,1 %), tumoral (n = 1,5, 6 %) y otras (n = 2, 11,1 %).

La comparación entre los pacientes que fallecieron y los que sobrevivieron mostró que los primeros eran preferentemente varones (11 vs. 7, p = 0,001), más ancianos ($63,6 \pm 12,3$ vs. $45,7 \pm 16,8$ años, p = 0,000) y con un mayor índice de Charlson sin edad ($4,5 \pm 1,1$ vs. $2,9 \pm 1,3$, p = 0,000). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los índices de medición de la RI (datos no mostrados).

El análisis de supervivencia global de Kaplan-Meier no reveló diferencias significativas en la mortalidad entre los pacientes con niveles de índice HOMAIR por encima y por debajo de la mediana (figura 1). De igual forma, no se evidenciaron diferencias en mortalidad CV y evento CV fatal y no fatal a lo largo del estudio (datos no mostrados).

DISCUSIÓN

En el presente estudio analizamos los efectos de la DP sobre parámetros de resistencia insulínica (HOMAIR y QUICKI) y su influencia sobre la aparición de eventos CV y mortalidad en un grupo de pacientes en DP no diabéticos.

En pacientes urémicos, la RI se presenta de manera muy frecuente, ocurriendo incluso en fases tempranas¹⁵. Se han descrito varias hipótesis que tratan de explicar la RI: 1) hiperproducción de factores proinflamatorios endógenos, como la homocisteína¹⁶, el estrés oxidativo¹⁷ o los niveles elevados de lipoproteína (a)¹⁸; y exógenos, como las infecciones crónicas, a veces silentes, por *Helicobacter pylori*¹⁹, prótesis vasculares infectadas o administración de hierro intravenoso entre otras²⁰; y 2) aumento del tejido graso²¹ por sobrealimentación, que conlleva la formación de un círculo vicioso con aumento de la producción de adipocitoquinas (leptina, resistina) y otros mediadores proinflamatorios, como el factor nuclear kappa beta, factor de necrosis tumoral alfa e interleuquina 6²². Estas quimoquinas actúan como proteínas quimiotácticas de monocitos y macrófagos (MCP-1)^{23,24} perpetuando la RI.

En pacientes en DP, el desarrollo de IR se atribuye a la gran cantidad de glucosa absorbida desde los líquidos de diálisis, lo que contribuye a otras alteraciones metabólicas, como la obesidad central, hipertrigliceridemia, y diabetes *de novo*²⁵. Además se induciría la hipersecreción de adipocitoquinas que perpetuarían el hiperinsulinismo y sus efectos metabólicos y sistémicos deletéreos. Según un estudio de Fortes et al.²⁶, los pacientes en DP tienen mayores niveles de glucosa en ayunas, HbA_{1c} e índice HOMAIR que los pacientes en hemodiálisis. Por otro lado, los pacientes con líquidos de diálisis libres de glucosa demostraron menor absorción de glucosa, menor ganancia de peso y acumulación de grasa, además de

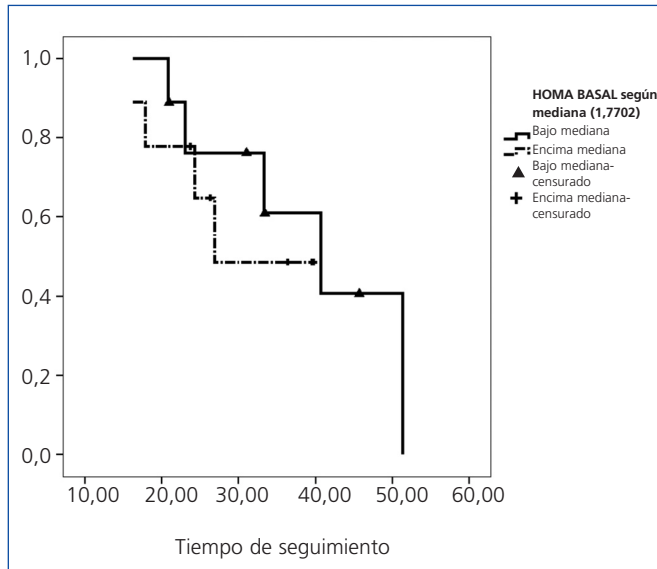


Figura 1. Curva de Kaplan-Meier, mediana HOMAIR frente a éxitus.

disminución de niveles de leptina en plasma y aumento del nivel plasmático de adiponectina, mejoría en la RI y la dislipidemia^{27,28}. En nuestro estudio, las concentraciones medias de glucosa, insulina y RI medida por el HOMAIR y QUICKI fueron similares en situación basal y al año de seguimiento tanto en pacientes incidentes como en prevalentes.

Bonora et al.²⁹ encontraron en una gran muestra de pacientes diabéticos tipo 2 que la RI, estimada por HOMAIR, era un fuerte predictor de enfermedad CV, tanto al inicio del estudio como durante el seguimiento. Este hecho ocurrió con independencia de los factores de riesgo CV clásicos y las variables más estrictamente relacionadas con la IR, como el índice de masa corporal. Asimismo, a pesar de que varios estudios mostraron que la hiperinsulinemia era capaz de predecir las enfermedades CV^{4,30}, otros, sin embargo, no encontraron una asociación significativa entre niveles plasmáticos de insulina y enfermedades CV³¹. En nuestro estudio no evidenciamos diferencias significativas en relación con la comorbilidad CV, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca o comorbilidad vascular cerebral, ni en función del índice HOMAIR, ni en los niveles de insulina. Asimismo, el índice de Charlson sin edad fue similar en los pacientes. Tampoco encontramos relación entre la presencia de enfermedad CV previa y el valor de HOMAIR.

La glucosa de las soluciones de DP podría tener un efecto sobre el adipocito abdominal que, a través de un incremento en la secreción de adipocitoquinas, incrementara la RI favoreciendo el desarrollo de un síndrome metabólico y acelerando el proceso de aterosclerosis del estado urémico. Al analizar nuestros datos, no encontramos diferencias en el índice HOMAIR ni en el QUICKI en función de las diferentes concentraciones de glucosa de las soluciones de DP utilizadas.

En la población general, la RI se considera un factor de riesgo CV y de mortalidad^{32,33}, mientras que este comportamiento parece diferir en los estudios realizados con pacientes con ERC. Un estudio de Shinohara et al.³⁴ mostró que el índice HOMAIR predecía la mortalidad en pacientes no diabéticos con ERC. Otros estudios, sin embargo, no han demostrado esta asociación³⁵. En nuestro análisis de supervivencia no encontramos diferencias estadísticamente significativas en los índices de RI, ni tampoco al clasificar los pacientes en función de los valores medianos de HOMAIR analizados por Kaplan-Meier. Probablemente, otros aspectos característicos de estos pacientes, como la edad o la comorbilidad, tengan más peso en la supervivencia que la resistencia a la insulina. Además, los valores de HOMAIR encontrados en nuestro estudio se hallan dentro de los límites normales, lo cual dificulta aún más la existencia de diferencias significativas en la supervivencia.

Bonora et al.³⁶ encontraron valores de HOMAIR de 2,06 ($2,06 \pm 0,14$) en una población de 62 sujetos sanos, utilizando un radioinmunoanálisis de doble anticuerpo para la medición de la insulina plasmática. En un estudio realizado en 490 voluntarios no diabéticos, 77 % caucásicos, de ambos sexos, edad entre 19 y 79 años e índice de masa corporal entre 18 y 42,2, los investigadores hallaron un índice de HOMAIR de $2,7 \pm 0,1$ ³⁷. El valor de HOMAIR en sujetos normales (sin alteración del metabolismo de la glucosa) en un trabajo previo nuestro fue de $2,22 \pm 0,26$ ³⁸. Los valores de HOMAIR que encontramos en nuestra población de estudio, tanto en pacientes incidentes como en prevalentes, se situaron entre el P50-P75 de la población general española según un estudio reciente³⁹. Caravaca et al.⁴⁰ encontraron en pacientes con ERC no diabéticos niveles medios de HOMAIR más elevados que los de nuestro estudio ($4,28 \pm 2,07$). Estos datos apoyan los resultados obtenidos demostrando que los pacientes no diabéticos en DP no presentan elevación significativa de los niveles de HOMAIR, con respecto a la población general, y que este hecho no se modifica con el tiempo en diálisis, al menos en un año.

Reconocemos como una limitación de nuestro estudio el hecho de haber incluido solo aquellos pacientes con glucemia basal > 140 mg/dl en lugar del corte diagnóstico de diabetes en la población general de ≥ 126 mg/dl, pero, al tratarse de pacientes en DP con un aporte continuo de glucosa, pretendíamos conseguir una cohorte de pacientes con una glucemia basal próxima a la normalidad, aunque excluyendo los casos de diabetes. Es posible que mediante este umbral más permisivo se hayan incluido pacientes con grados menores de alteración del metabolismo de la glucosa, como la intolerancia hidrocabonada, pero nuestra intención fue solo excluir aquellos pacientes con diabetes franca. El hecho de que todos los pacientes, para poder ser incluidos en el estudio, tuvieran que tener al menos un año de evolución en DP supone un sesgo en el estudio de supervivencia. Además, este estudio está limitado por el corto número de pacientes estudiados, pero ofrece un

doble abordaje sobre diferentes etapas de tratamiento en DP, inicial y tardía, con consistencia de los resultados en ambas. Asimismo, su carácter prospectivo avala de forma considerable los resultados obtenidos.

En conclusión, los pacientes no diabéticos en DP no presentan elevación significativa de los niveles de HOMAIR, ni modificación de dicho índice tras un año de tratamiento en DP, lo que sugiere que la DP no es causa de aumento del riesgo de RI. El hecho de que los índices de RI no se asocien a morbilidad o mortalidad CV parece sugerir el menor peso de este factor en el ámbito de la DP.

Conflictos de interés

Los autores declaran que no tienen conflictos de interés potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Foley RN. Clinical epidemiology of cardiac disease in dialysis patients: left ventricular hypertrophy, ischemic heart disease, and cardiac failure. *Semin Dial* 2003;16(2):111-7.
- Lowrie EG, Lazarus JM, Mocelin AJ, Bailey GL, Hampers CL, Wilson RE, et al. Survival of patients undergoing chronic hemodialysis and renal transplantation. *N Engl J Med* 1973;288(17):863-7.
- Ducimetiere P, Eschwege E, Papoz L, Richard JL, Claude JR, Rosselin G. Relationship of plasma insulin levels to the incidence of myocardial infarction and coronary heart disease mortality in a middle-aged population. *Diabetologia* 1980;19(3):205-10.
- Welborn TA, Wearne K. Coronary heart disease incidence and cardiovascular mortality in Busselton with reference to glucose and insulin concentrations. *Diabetes Care* 1979;2(2):154-60.
- Reaven GM, Lithell H, Landsberg L. Hypertension and associated metabolic abnormalities—the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *N Engl J Med* 1996;334(6):374-81.
- Kobayashi S, Maesato K, Moriya H, Ohtake T, Ikeda T. Insulin resistance in patients with chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2005;45(2):275-80.
- Merino A, Noguera S, Buendía P, Ojeda R, Carracedo J, Ramirez-Chamond R, et al. Microinflammation and endothelial damage in hemodialysis. *Contrib Nephrol* 2008;161:83-8.
- García-López E, Carrero JJ, Suliman ME, Lindholm B, Stenvinkel P. Risk factors for cardiovascular disease in patients undergoing peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2007;27 Suppl 2:S205-S209.
- Beddhu S, Bruns FJ, Saul M, Seddon P, Zeidel ML. A simple comorbidity scale predicts clinical outcomes and costs in dialysis patients. *Am J Med* 2000;108(8):609-13.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28(7):412-9.
- Hrebicek J, Janout V, Malincikova J, Horakova D, Cizek L. Detection of insulin resistance by simple quantitative insulin sensitivity check index QUICKI for epidemiological assessment and prevention. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(1):144-7.
- Hurst JW, Morris DC, Alexander RW. The use of the New York Heart Association's classification of cardiovascular disease as part of the patient's complete Problem List. *Clin Cardiol* 1999;22(6):385-90.
- Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285(19):2486-97.
- The sixth report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Arch Intern Med* 1997;157(21):2413-46.
- Fliser D, Pacini G, Engelleiter R, Kautzky-Willer A, Prager R, Franek E, et al. Insulin resistance and hyperinsulinemia are already present in patients with incipient renal disease. *Kidney Int* 1998;53(5):1343-7.
- Gillum R. Distribution of serum total homocysteine and its association with diabetes and cardiovascular risk factors of the insulin resistance syndrome in Mexican American men: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Nutr J* 2003;2:6.
- Rosen P, Nawroth PP, King G, Moller W, Tritschler HJ, Packer L. The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, the American Diabetes Association and the German Diabetes Society. *Diabetes Metab Res Rev* 2001;17(3):189-212.
- Reaven GM, Chen YD, Jeppesen J, Maheux P, Krauss RM. Insulin resistance and hyperinsulinemia in individuals with small, dense low density lipoprotein particles. *J Clin Invest* 1993;92(1):141-6.
- Aguilera A, Gonzalez-Espinoza L, Codoceo R, Jara Mdel C, Pavone M, Bajo MA, et al. Bowel bacterial overgrowth as another cause of malnutrition, inflammation, and atherosclerosis syndrome in peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial* 2010;26:130-6.
- Amore A, Coppo R. Immunological basis of inflammation in dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17 Suppl 8:16-24.
- Krotkiewski M, Bjorntorp P, Sjostrom L, Smith U. Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution. *J Clin Invest* 1983;72(3):1150-62.
- Shoelson SE, Lee J, Yuan M. Inflammation and the IKK beta/I kappa B/NF-kappa B axis in obesity- and diet-induced insulin resistance. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003;27 Suppl 3:S49-S52.
- Sartipy P, Loskutoff DJ. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(12):7265-70.
- Takahashi K, Mizuarai S, Araki H, Mashiko S, Ishihara A, Kanatani A, et al. Adiposity elevates plasma MCP-1 levels leading to the increased CD11b-positive monocytes in mice. *J Biol Chem* 2003;278(47):46654-60.
- Szeto CC, Chow KM, Kwan BC, Chung KY, Leung CB, Li PK. New-onset hyperglycemia in nondiabetic chinese patients started on peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 2007;49(4):524-32.
- Fortes PC, Mendes JG, Riella MC, Pecoito-Filho R. Carbohydrate metabolism disturbances in non-diabetic patients on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2006;26 Suppl 2:Abstract.

27. Furuya R, Odamaki M, Kumagai H, Hishida A. Beneficial effects of icodextrin on plasma level of adipocytokines in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21(2):494-8.
28. Cho KH, Do JY, Park JW, Yoon KW. Effect of icodextrin dialysis solution on body weight and fat accumulation over time in CAPD patients. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25(2):593-9.
29. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000;23(1):57-63.
30. Després JP, Lamarche B, Mauriège P, Cantin B, Dagenais GR, Moorjani S, et al. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1996;334(15):952-7.
31. Hargreaves AD, Logan RL, Elton RA, Buchanan KD, Oliver MF, Riemersma RA. Glucose tolerance, plasma insulin, HDL cholesterol and obesity: 12-year follow-up and development of coronary heart disease in Edinburgh men. *Atherosclerosis* 1992;94(1):61-9.
32. Ginsberg HN. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest* 2000;106(4):453-8.
33. McFarlane SI, Banerji M, Sowers JR. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(2):713-8.
34. Shinohara K, Shoji T, Emoto M, Tahara H, Koyama H, Ishimura E, et al. Insulin resistance as an independent predictor of cardiovascular mortality in patients with end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002;13(7):1894-900.
35. Becker B, Kronenberg F, Kielstein JT, Haller H, Morath C, Ritz E, et al. Renal insulin resistance syndrome, adiponectin and cardiovascular events in patients with kidney disease: the mild and moderate kidney disease study. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(4):1091-8.
36. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000;23(1):57-63.
37. Yeni-Komshian H, Carantoni M, Abbasi F, Reaven GM. Relationship between several surrogate estimates of insulin resistance and quantification of insulin-mediated glucose disposal in 490 healthy nondiabetic volunteers. *Diabetes Care* 2000;23(2):171-5.
38. Díez JJ, Grande C, Méndez J, González-Gancedo P, Iglesias P. Growth hormone and insulin-like growth factor binding protein-1 responses to oral glucose in patients with primary hyperparathyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;65(1):27-34.
39. Gayoso-Diz P, Otero-Gonzalez A, Rodriguez-Alvarez MX, Gude F, Cadarso-Suarez C, García F, et al. Insulin resistance index (HOMA-IR) levels in a general adult population: curves percentile by gender and age. The EPIRCE study. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;94(1):146-55.
40. Caravaca F, Cerezo I, Macías R, García de Vinuesa E, Martínez del Viejo C, Villa J, et al. [Insulin resistance in chronic kidney disease: its clinical characteristics and prognosis significance]. *Nefrologia* 2010;30(6):661-8.

Artículo 6

“Fibroblast growth factor 21 in peritoneal dialysis patients: natural history and metabolic implications”.

“Fibroblast Growth Factor 21 in peritoneal dialysis patients: natural history and metabolic implications”

Elena González, Juan J. Díez, M^a Auxiliadora Bajo, Gloria del Peso, Cristina Grande, Olaia Rodríguez, Mariana Díaz-Almirón, Pedro Iglesias, Rafael Selgas.

Plos One. 2016. Mar 17;11(3):e0151698. doi: 10.1371/journal.pone.0151698.

Factor de impacto: 3,54

Este trabajo responde al objetivo 3

INTRODUCCIÓN

El FGF-21 es una hormona de origen hepático que estimula la entrada de glucosa en el adipocito independientemente de la insulina, suprime la producción de glucosa hepática y está implicada en la regulación de la grasa corporal. Su expresión hepática está regulada tanto por la ingesta como por el ayuno. Estimula la captación de glucosa independientemente de la acción de la insulina en los adipocitos, induce la acumulación de triglicéridos, aumenta el gasto energético basal (lo que provoca la pérdida de peso) e induce la oxidación de los ácidos grasos.

Los pacientes urémicos en diálisis padecen varias alteraciones metabólicas, que han sido aún poco estudiadas. En primer lugar, el FGF-21 se metaboliza principalmente por el riñón, por lo que la disminución de la función renal provocaría un aumento de sus niveles plasmáticos. Además, la sobrecarga de glucosa a la que los pacientes en DP se ven sometidos a través del peritoneo, podría también estimular su producción, lo que podría explicar la tendencia a la insulino-resistencia en estos pacientes.

Las características intrínsecas de los pacientes en DP (exposición a altas dosis de glucosa con transporte peritoneal y función renal disminuida), podría modificar la producción, acción y eliminación del FGF-21, así como sus niveles plasmáticos a lo largo del tiempo.

OBJETIVOS

Definir la historia natural del FGF-21 en los pacientes de DP, analizar su relación con los parámetros de homeostasis de la glucosa y estudiar la influencia de la función renal residual y los diferentes parámetros de diálisis sobre los niveles plasmáticos del FGF-21 y su variación en el tiempo.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo de un año de duración en 48 pacientes incidentes en DP. En cada paciente se determinaron, basalmente y anualmente durante 3 años, varios parámetros bioquímicos incluyendo el FGF-21. La siguiente información clínica fue recogida de la historia clínica de los pacientes: datos demográficos (edad, peso, sexo, etc.), analíticos (glucosa, albúmina e insulina), función renal residual (FRR) e índices de adecuación de diálisis peritoneal.

RESULTADOS

Los niveles plasmáticos del FGF-21 se incrementaron substancialmente durante el primer año, manteniéndose elevados durante el resto del estudio (253 pg/ml (59; 685) al inicio; 582 pg/ml (60,5-949) al primer año y 647 pg/ml (120,5-1116,6) al tercer año) ($p<0.01$). Encontramos una correlación positiva entre los niveles plasmáticos de FGF-21 y el tiempo en diálisis ($p<0.001$), y una correlación

inversa con la FRR ($p = -0,484$, $p < 0,05$). Además, observamos una relación estadísticamente significativa entre los niveles de FGF-21 y las pérdidas proteicas peritoneales (PPP), independientemente del tiempo en diálisis ($p = 0,410$, $p < 0,05$).

CONCLUSIONES

Nuestro estudio demuestra que los niveles plasmáticos de FGF-21 se incrementan en los pacientes incidentes en DP a lo largo de los tres primeros años (de forma significativa sobre todo en el primer año). Este aumento está relacionado con la FRR y las PPP (mayores niveles de FGF-21 en los pacientes con menor FRR y mayores PPP). El FGF-21 podría ser un importante factor endocrino en los pacientes de DP y actuar como señal hormonal para mantener la homeostasis de la glucosa y prevenir el desarrollo de RI. Estos resultados preliminares sugieren que el FGF-21 puede jugar un papel protector en contra de la aparición de RI en el tiempo en los pacientes sometidos a una sobrecarga intraperitoneal mantenida de glucosa.

RESEARCH ARTICLE

Fibroblast Growth Factor 21 (FGF-21) in Peritoneal Dialysis Patients: Natural History and Metabolic Implications

Elena González¹, Juan J. Díez², M. Auxiliadora Bajo¹, Gloria del Peso¹, Cristina Grande², Olaia Rodríguez³, Mariana Díaz-Almirón⁴, Pedro Iglesias^{2*}, Rafael Selgas¹

1 Department of Nephrology, La Paz University Hospital, IdiPAZ, FRIAT-IRSIN, REDinREN, Madrid, Spain, **2** Department of Endocrinology, University Hospital Ramón y Cajal, Madrid, Spain, **3** Department of Biochemistry, La Paz University Hospital, IdiPAZ, FRIAT-IRSIN, REDinREN, Madrid, Spain, **4** Biostatistics Section, La Paz University Hospital, IdiPAZ, FRIAT-IRSIN, REDinREN, Madrid, Spain

* These authors contributed equally to this work.

* piglo65@gmail.com



Abstract

Background

Human fibroblast growth factor 21 (FGF-21) is an endocrine liver hormone that stimulates adipocyte glucose uptake independently of insulin, suppresses hepatic glucose production and is involved in the regulation of body fat. Peritoneal dialysis (PD) patients suffer potential interference with FGF-21 status with as yet unknown repercussions.

Objectives

The aim of this study was to define the natural history of FGF-21 in PD patients, to analyze its relationship with glucose homeostasis parameters and to study the influence of residual renal function and peritoneal functional parameters on FGF-21 levels and their variation over time.

Methods

We studied 48 patients with uremia undergoing PD. Plasma samples were routinely obtained from each patient at baseline and at 1, 2 and 3 years after starting PD therapy.

Results

Plasma FGF-21 levels substantially increased over the first year and were maintained at high levels during the remainder of the study period (253 pg/ml (59; 685) at baseline; 582 pg/ml (60.5–949) at first year and 647 pg/ml (120.5–1116.6) at third year) ($p < 0.01$). We found a positive correlation between time on dialysis and FGF-21 levels ($p < 0.001$), and also, those patients with residual renal function (RRF) had significantly lower levels of FGF-21 than those without RRF ($p = -0.484$, $p < 0.05$). Lastly, there was also a significant association between FGF-21 levels and peritoneal protein losses (PPL), independent of the time on dialysis ($p = 0.410$, $p < 0.05$).

OPEN ACCESS

Citation: González E, Díez JJ, Bajo MA, del Peso G, Grande C, Rodríguez O, et al. (2016) Fibroblast Growth Factor 21 (FGF-21) in Peritoneal Dialysis Patients: Natural History and Metabolic Implications. PLoS ONE 11(3): e0151698. doi:10.1371/journal.pone.0151698

Editor: Abelardo I Aguilera, Hospital Universitario de La Princesa, SPAIN

Received: August 24, 2015

Accepted: March 2, 2016

Published: March 17, 2016

Copyright: © 2016 González et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: This study was partially funded with the Rio Hortega Grant Program from the ISCIII, the Extramural Grant Program from Baxter, Health Research Fund FIS-12/00241 and the REDinREN program from the ISCIII-FEDER Funds, IRSIN-FRIAT. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: This study was partly funded by the Extramural Grant Program from Baxter. There are no patents, products in development or marketed products to declare. This does not alter the authors' adherence to all the PLOS ONE policies on sharing data and materials, as detailed online in the guide for authors. Rafael Selgas received funds for different research projects from Instituto de Salud Carlos III, which belongs to the Spanish Economy and Competitiveness Ministry. The other authors declare no conflicts of interest.

Conclusion

Our study shows that FGF-21 plasma levels in incident PD patients significantly increase during the first 3 years. This increment is dependent on or is associated with RRF and PPL (higher levels in patients with lower RRF and higher PPL). FGF-21 might be an important endocrine agent in PD patients and could act as hormonal signaling to maintain glucose homeostasis and prevent potential insulin resistance. These preliminary results suggest that FGF-21 might play a protective role as against the development of insulin resistance over time in patients undergoing a continuous glucose load.

Introduction

Fibroblast growth factors (FGFs) are polypeptide growth factors composed of 150–300 amino acids with various actions on neuronal development and metabolism. Human fibroblast growth factor 21 (FGF-21) is a 181-amino acid circulating protein derived from a 209-amino acid mature protein encoded by the FGF-21 gene located on chromosome 19 [1]. It binds in an extracellular manner to a cell surface tyrosine kinase FGF receptor (FGFR), and noncovalently to a co-receptor (β -Klotho) to form the β -Klotho-FGF-21-FGFR complex. Both β -Klotho and FGFR are necessary to exert the intracellular signal transduction of FGF-21. FGF-21 is produced primarily in the liver and in other tissues (white adipose tissue, muscle and pancreatic β cells) [2–4].

Hepatic expression is regulated by both intake and fasting. The β -Klotho-FGF-21-FGFR complex stimulates glucose uptake independently of insulin action and via induction of glucose-transporter-1 (GLUT-1). The entry of glucose into adipocytes induces triglyceride storage, increases basal energy expenditure (which induces weight loss) and up-regulates fatty acid oxidation [5].

FGF-21 suppresses hepatic glucose production and increases liver glycogen, decreasing glucagon levels. Furthermore, the hepatic expression of PPAR- γ and FGF-21 is stimulated by the activation of the hepatic glucagon receptor. FGF-21 is also involved in the regulation of body fat and is directly correlated with body mass index (BMI), leptin, triglycerides, insulin and the homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) index [6].

Patients with uremia on dialysis have several abnormalities that potentially modify the situation of the β -Klotho-FGF-21-FGFR complex, which has been scarcely studied [7,8]. Chronic kidney disease is a soluble α -Klotho deficiency state that entails resistance to other members of the family, such as FGF-23 [9]. The possible clinical resistance to FGF-21, due to a similar β -Klotho deficiency state, has not yet been analyzed or assessed.

FGF-21 is primarily metabolized in the kidney [10–13]. Its plasma levels increase according to the decline in renal function in patients with chronic kidney disease [10]. Hence, the loss of renal function might determine some degree of accumulation. In peritoneal dialysis (PD) patients, the daily glucose overload coming from the peritoneum and reaching the liver might influence FGF-21 production. This high production of FGF-21 might explain the tendency toward insulin resistance that PD patients could exhibit due to glucose absorption from their dialysate (estimated between 100–300 g per day) [14].

With the hypothesis that the intrinsic characteristics of PD (glucose overload, peritoneal transport, and residual renal function [RRF]) might modify production, action and removal of FGF-21, we performed the present study with the following aims: 1) to define the natural

history of FGF-21 in PD patients and analyze its relationship with plasma glucose, the HOMA-IR index, nonesterified fatty acids (NEFAs) and weight status over time; and 2) to study the influence of RRF and peritoneal function on FGF-21 plasma levels and their variation over time.

Patients and Methods

Patients and study design

We studied 48 patients with uremia (37 men and 11 women) undergoing PD. The mean (\pm SD) age of this cohort of patients was 54 ± 15.9 years, and the median (interquartile range) duration of PD at the start of the study was 1 (1–2) months.

In this sample, there were 11 (22.9%) patients with diabetes; 42 (87.5%) had hypertension and 27 (56.3%) had previous cardiovascular (CV) disease. The primary clinical data, analytical data and kidney and peritoneal function parameters of the non-diabetic patients ($n = 37$) throughout the study period are shown in [Table 1](#).

We studied incident PD patients who remained in our PD program for at least 3 years. Plasma samples were obtained from each patient at various times during the follow-up: the first (baseline sample) in the first two months after starting PD therapy (between 2003 and 2010), and thereafter, annually for 3 years. The following information was collected from patient records at baseline: demographic data (including age, height and weight); prevalence of CV risk factors (hypertension, diabetes mellitus, hyperlipidemia, body mass index and CV disease at the beginning of dialysis); laboratory tests (blood glucose levels, insulin, NEFAs, HOMA-IR [only in the non-diabetic patients], and albumin); PD-related parameters: type of dialysis (continuous peritoneal ambulatory dialysis [CAPD] or automated peritoneal dialysis [APD]), RRF and urea (U-MTC) and creatinine (Cr-MTC) mass transfer area coefficients.

This study was conducted according to the principles expressed in the Declaration of Helsinki. All patients signed an informed consent form at starting peritoneal dialysis, in which the specific authorization for periodically collect biological samples for the hospital biobank was

Table 1. Clinical, biochemical, renal and PD parameters in 37 non-diabetic patients in PD at baseline and during the 3 years of the study.

	Baseline	1 st year	2 nd year	3 rd year
FGF-21 (pg/ml)	253 (59–685)	582 (60.5–949)	447 (200–1306.5)**	647 (120.5–1116.5)**
BMI (kg/m ²)	26.5 \pm 3.3	26.8 \pm 3.7	27.0 \pm 3.9	27.8.3 \pm 3.9
Blood glucose (mg/dl)	88.1 \pm 14.8	94.6 \pm 20.7	89.1 \pm 11.3	91 \pm 14.8
Albumin (g/dl)	3.4 \pm 0.4	3.3 \pm 0.4	3.3 \pm 0.4	3.6 \pm 0.5
NEFAs (mg/dl)	146 (88–177.5)	127 (75–144)	130 (114–175.5)	114 (79–190)
Insulin (μ UI/ml)	11 (6.5–17)	10 (5.5–17.5)	9 (4–13)	8 (4–12)
HOMA-IR	1.96(1.23–4.15)	2.32 (1.25–4.39)	1.65 (0.79–2.86)*	1.45 (0.81–3.4)
RRF (ml/min)	7.4 \pm 2.8	5.7 \pm 3.4*	4.3 \pm 3.4*	3.6 \pm 3.6*
PPL, g/24h	5.8 \pm 1.7	5.9 \pm 1.9	6 \pm 2.3	5.5 \pm 2.4
Urea MTC (ml/min)	23.9 \pm 4.9	24.4 \pm 7.1	24.2 \pm 6	22 \pm 6
Creatinine MTC (ml/min)	8.6 \pm 2.1	8.7 \pm 3.8	9 \pm 2.5	9.6 \pm 5.8

Data are the mean \pm SD for normally distributed data and median (interquartile range) in other case.

Abbreviations: PD: peritoneal dialysis; BMI: body mass index; FGF-21: fibroblast growth factor 21; NEFAs: non-esterified fatty acid; RRF: residual renal function; PPL: peritoneal protein losses; MTC: peritoneal mass transport area coefficient.

* $p < 0.05$ (vs. baseline, Wilcoxon signed-rank test).

**FGF-21 was analyzed by LMERM (p -value < 0.05).

doi:10.1371/journal.pone.0151698.t001

included. In addition, in this consent form it was specified the possibility of using the archived samples and their clinical data for future scientific initiatives and purposes, when they will not be accessible. This study is part of the Extramural Grant Program (EGP) Project from Baxter, entitled “Cardiovascular Disease and Peritoneal Membrane Damage in Peritoneal Dialysis as Concurrent Consequences of a Common Mechanism Dependent on the Glucose Effect in Peritoneal Adipocytes”, approved by the Research Ethics Committee of the Hospital Universitario La Paz.

During follow-up at each annual evaluation, the following analyses were performed: plasma FGF-21, NEFAs, glucose, insulin and albumin. The HOMA-IR was calculated and the peritoneal function-related parameters were also recorded. All the patients were subjected to a baseline peritoneal kinetic study (within 8 weeks after the start of dialysis) and every year thereafter. This study was performed using a standard protocol of a 4-hour dwell period with 3.86% glucose concentration of a 2-liter volume exchange. During the peritoneal function study, the patients fasted and received no medication. To measure the peritoneal diffusive capacity, 6 samples of the peritoneal effluent (at time 0, 30, 60, 120, 180 and 240 minutes) and a blood sample were taken. Based on these determinations, the D/P Cr was calculated as described by Twardowski [15], as well as the mass transfer coefficients of urea (U-MTC) and creatinine (Cr-MTC), based on the mathematical model described previously by our group [16,17]. The peritoneal protein losses were also measured in the effluent and calculated as g/24 hours.

The estimated average peritoneal glucose load was calculated according to the total glucose concentration in the administered dialysate. The patients were classified into one of three groups: low load (all dialysate glucose 1.5%), intermediate (less than 50% dialysate glucose 2.5%) or high (more than 50% dialysate glucose 2.5%). At baseline, 80% of the patients had a low average glucose load and no patient had a high load. At the end of the study, 53.1% maintained a low glucose load and only 21.9% had a high load. There were no differences in the peritoneal glucose load between the diabetic and the non-diabetic patients.

Laboratory procedures. Blood samples for FGF-21 were collected in lithium heparin plasma tubes and centrifuged at 3500 rpm for 10 min before storage at -40°C or -80°C until all the samples were assayed at the same time. The intact FGF-21 was quantified by an enzyme-linked immunosorbent sandwich assay (ELISA), according to the manufacturer’s instructions (Merck-Millipore, Darmstadt, Germany). The sensitivity for FGF-21 was 1.7 pg/mL, and accuracy was 5.7% intra-assay and 6.9% inter-assay. The normal value was <200 pg/mL. We performed an analysis of plasma FGF-21 concentrations in 9 end-stage kidney disease patients, founding a median value of 86 pg/ml (range 79–430).

Determination of NEFAs was based on an *in vitro* enzymatic colorimetric method (A25, Biosystems, Barcelona, Spain). The expected values were 2.8–16.9 mg/dL for men, and 2.8–12.7 mg/dL for women. The accuracy was 1.5%. Insulin was quantified by immunoassay using direct chemiluminescent technology (Liaison, DiaSorin, Saluggia, Italy). Sensitivity was 0.5 µUI/mL. Accuracy was 3.9% intra-assay and 4.3% inter-assay. The HOMA-IR index was calculated in the non-diabetic patients according to the formula by Matthews et al. [18]:
$$\text{HOMA-IR} = \text{glucose (mmol/L)} \times \text{insulin (}\mu\text{U/mL)} / 22.5.$$

Statistical analysis. Quantitative data are expressed as mean ± standard deviation (SD) for normally distributed continuous variables, or median (interquartile range [IQ]) in other case. Kolmogorov-Smirnov test was performed over each variable on Table 1 to test for normality to explore data. Differences from baseline to each visit were analyzed using paired Student’s t-test or Wilcoxon test, depending on data distribution. Categorical variables were reported as count and percentages. Correlations between the variables were assessed using the Spearman correlation analysis. FGF-21 variable was transformed into napierian logarithm of FGF-21 to reach a

normal distribution. Data were analyzed using repeated measures in a Linear Mixed-Effects Regression Model (LMERM) with the Restricted Maximum Likelihood Method (REML). Regarding the first objective, to estimate “*the Natural History of napierian logarithm of FGF-21 plasma levels in PD patients*”, time was added to test the linear effect of time on the FGF21 plasma level, thus we considered the intercept and time as random and unstructured covariance matrix for those effects. Related to the second objective, we added specific covariates into the model and estimated the relationship with the outcome after controlling for the fixed linear effect of time. We studied main factor and the interactions effects. Interaction was indicated by different evolution in the profiles of the groups (different slopes).

Contour plots are visual representations of continuous data on two axes. The contour interpolation shows how the estimated means vary for different range combinations of the predictors. This representation has been used to reflect the plasma FGF-21 level variation over time in PD patients according to RRF and peritoneal protein losses.

A p-value <0.05 was considered statistically significant. All statistical analyses were performed using statistical software SPSS for windows, version 15.0 (Chicago, SPSS Inc., USA) and SAS Enterprise Guide 5.1. (Cary NC, SAS Institute Inc., USA). In particular, the procedure MIXED was used in the Linear Mixed-Effects Regression Model for estimation of parameters.

Results

Baseline FGF-21 plasma level in PD patients was 177 pg/ml (30–628) and there was not statistically significant difference between the median values in PD and end-stage kidney disease patients.

A significant increase in plasma FGF-21 levels was observed from the first year in the entire cohort by LMERM (Fig 1). When classifying patients according to the presence or absence of diabetes, we found that this increase was significant in the second and third year in the non-diabetic subjects and was almost significant in the first year ($p = 0.06$). In the patients with diabetes, we found a non-significant increase in FGF-21 levels in the first 2 years, returning to values similar to baseline at the end of the study.

Regarding other glucose metabolism parameters, in the non-diabetic patients, blood glucose levels did not vary throughout the study, whereas insulin levels exhibited a non-significant mild decrease. However, we found a significant reduction in HOMA-IR at the second year (Table 1). We did not find any significant change in NEFAs and albumin concentrations during the 3 years of the study, even among the diabetic patients.

In relation to the renal and peritoneal function parameters, RRF in the non-diabetic patients declined progressively and significantly from the first year of the study (Table 1). However, U-MTC, Cr-MTC and peritoneal protein losses (PPL) did not vary throughout the study.

We performed a correlation to assess the relationship between FGF-21 levels and diverse clinical, analytical and PD parameters (Table 2). First, we analyzed correlations between baseline FGF-21 levels and baseline parameters. We found a significant correlation with RRF ($\rho -0.484$, $p < 0.05$) and PPL ($\rho 0.410$, $p < 0.05$). Second, when analyzing data at the first year, we found a significant correlation between FGF-21 and both HOMA-IR ($\rho -0.395$, $p < 0.05$) and PPL ($\rho 0.566$, $p < 0.01$). We did not find a significant correlation with glucose or insulin. Third, we studied the relationship between the variation in FGF-21 levels within the first year (concentration at one year-baseline concentration) and the corresponding changes in the same parameters. We did not find any significant correlation in this last analysis.

Using a mixed model analysis, we performed a longitudinal analysis to study the effect of the time on dialysis on plasma FGF-21 concentrations (Table 3) and found a positive correlation ($p < 0.001$).

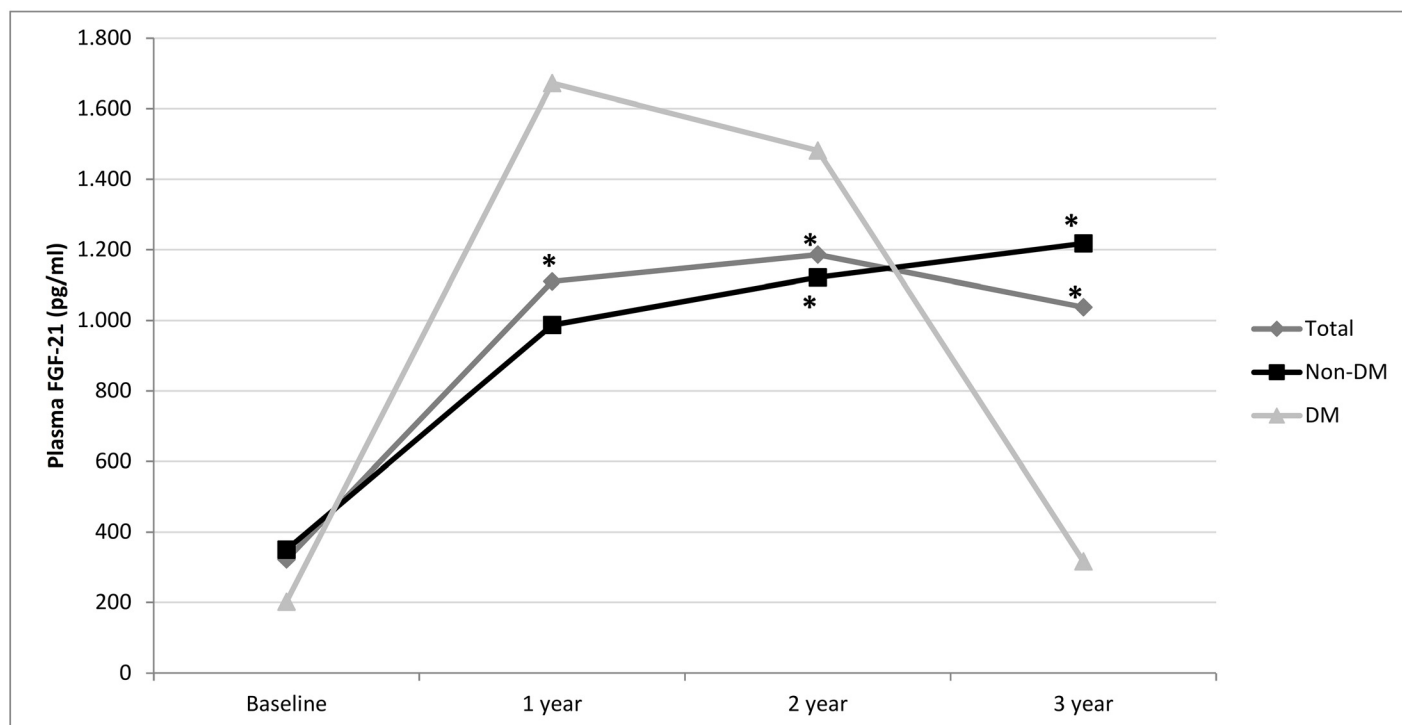


Fig 1. FGF-21 plasma level variation over time. FGF-21 plasma level variation over time in the 48 studied patients, according to the presence or absence of diabetes. The significant increase in the first year affecting both non-diabetic and diabetic patients is remarkable. After this period, FGF-21 levels remained approximately 3-fold over the initial range for 3 years in the non-diabetic patients. Abbreviations: DM: diabetic patients; Non-DM: non-diabetic patients. * $p < 0.05$ (Linear Mixed-Effects Regression Model).

doi:10.1371/journal.pone.0151698.g001

Table 2. Matrix correlation between clinical and analytical parameters with FGF-21 at baseline, and at the first year. Correlation of increment during the first year in clinical and analytical parameters with FGF-21 increment, in non-diabetic patients.

Variables	Baseline parameters with baseline FGF-21	1 st year parameters with 1 st year FGF-21	Δ FGF-21 with change in parameters
BMI (kg/m ²)	-0.200	-0.091	-0.253
Blood glucose (mg/dl)	0.038	-0.302	-0.053
Albumin (g/dl)	0.064	-0.299	-0.055
NEFAs (mg/dl)	-0.058	-0.006	-0.076
Insulin (μUI/ml)	0.280	-0.332	-0.214
HOMA-IR	0.203	-0.396*	-0.154
RRF (ml/min)	-0.484*	-0.272	-0.311
PPL (g/24h)	0.410*	0.566*	0.233
Urea MTC (ml/min)	-0.042	-0.235	-0.016
Creatinine MTC (ml/min)	0.006	0.113	0.065

Data are expressed as correlation coefficient for nonparametric data (Spearman Rho). In the last column, we showed the correlation between the change in FGF-21 levels within the first year with the change in the values in these parameters, in the same time, in non-diabetic patients.

Abbreviations: BMI: body mass index; NEFA: non-esterified fatty acid; FGF-21: fibroblast growth factor 21; RRF: residual renal function; PPL: peritoneal protein losses; MTC: mass transport area coefficient.

* $p < 0.05$.

doi:10.1371/journal.pone.0151698.t002

Table 3. Natural History of napierian logarithm of FGF-21 plasma levels in PD patients estimated by the random linear time model.

Effect	Estimate	Standard Error	p
Intercept	5.0559	0.3132	<0.01
Time	0.03015	0.008994	<0.01

Solution for fixed effects.

doi:10.1371/journal.pone.0151698.t003

We then studied the effects of the other factors on the evolution of FGF-21 on PD patients (Table 4). We found no association, apart from time, with age, BMI, HOMA-IR, NEFAs, glucose levels, PD modality, glucose in PD solutions, Cr-MTC, U-MTC and ultrafiltration. Furthermore, there was no association with RRF or diuresis output, although there was a significant (independent) association between higher FGF-21 levels over time and anuria.

Using the mixed model analysis to evaluate FGF-21 evolution over time in relation to RRF, we found that patients with RRF had lower levels than those without RRF ($p < 0.05$) (Fig 2). To exclude the influence of RRF on the FGF-21 increase during the first year, we performed an analysis with FGF-21 and RRF values during this period; there was no significant reduction in RRF and diuresis over the first year. We found no significant interaction effect between time and RRF (described as different evolution) ($p = 0.8$). However, FGF-21 plasma levels increased in 80% of the patients to various degrees. This result is sufficient to confirm the independence of the FGF-21 plasma level increase from RRF during the first year. During subsequent years, anuria determined an additional step upward in the FGF-21 plasma level.

There was also a significant statistical association between FGF-21 levels and PPL ($p < 0.05$). Patients with higher PPL had more elevated FGF-21 levels, independent of time on dialysis (Fig 3). With this same analysis, we found an almost significant association between FGF-21 levels and peritoneal creatinine transport (Creatinine D/P, $p = 0.06$ and Cr-MTC, $p = 0.06$), which would be consistent with the findings relative to peritoneal protein losses.

Table 4. Estimation of the relationship between FGF-21 and glucose homeostasis, residual renal function and peritoneal functional parameters adjusted over time.

Variable	Estimate	Standard Error	p
Age	0.007732	0.01650	0.6431
BMI	-0.03343	0.05863	0.5707
HOMA-IR	-0.06317	0.06505	0.3339
NEFAs	-0.00196	0.002110	0.3562
Glucose	-0.00997	0.009290	0.2859
PD modality	-0.7397	1.0885	0.4986
Glucose in PD solutions	-0.5979	0.4295	0.1690
Cr-MTC	0.02618	0.04395	0.5543
U-MTC	0.01084	0.02853	0.7051
DPCr <0.8	-1.2514	0.6298	0.0507
PPL	0.1976	0.09214	0.0360
UF	-0.00044	0.000820	0.5905
Anuria	-1.1597	0.4948	0.0237
RRF	-0.03912	0.03940	0.3233

doi:10.1371/journal.pone.0151698.t004

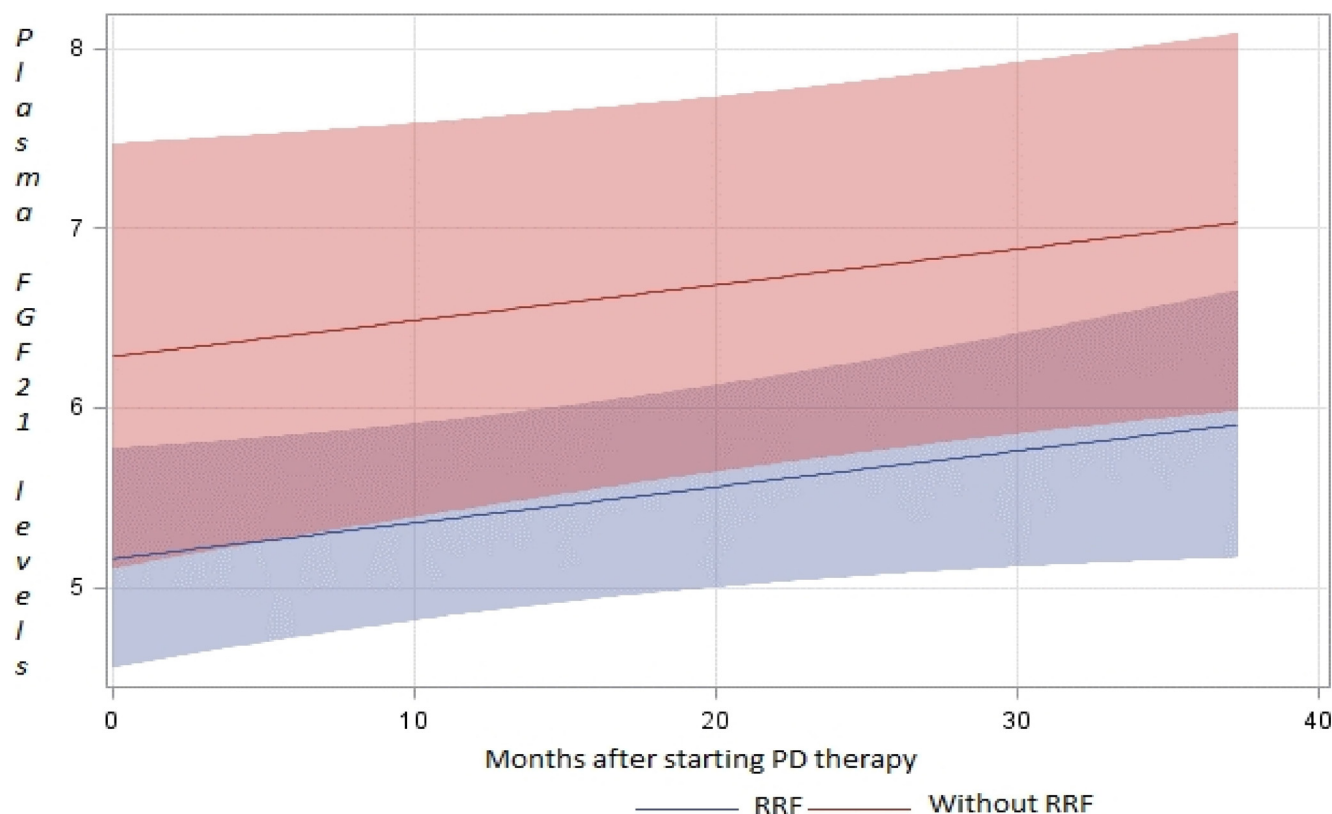


Fig 2. Contour plot representing the evolution of plasma FGF-21 levels over time in PD therapy, according to residual renal function. Contour plot representing the evolution of plasma FGF-21 levels (scaled by a Napierian logarithm on the y-axis) over time in PD therapy, according to residual renal function (RRF). The quantitative color scheme was chosen in a log scale (blue = the lowest, red = the highest) to achieve optimal range in the display; the annotated color quantitative scale shows the 95% confidence interval for the values.

doi:10.1371/journal.pone.0151698.g002

Discussion

To the best of our knowledge, this is the first study to analyze the natural history of FGF-21 in patients on PD. Like other markers, it appears that FGF-21 could be more valuable when periodically monitored rather than when assessed as an isolated value. Results of the present study clearly show that the first 3 years on PD are accompanied by a significant increase in FGF-21 plasma levels. In patients with diabetes, we could not find significant differences in FGF-21 concentrations, probably due to the limited sample size. Therefore, our analysis of the relationships between FGF-21 and metabolic and dialysis parameters was performed only on the cohort of non-diabetic patients.

The median FGF-21 value in our study is in agreement with previous reports that use the same methodology. Han et al. [8] compared 72 Korean non-diabetic PD patients (76.0 ± 50.7 months on PD) with 63 healthy controls and found a significant difference in the FGF-21 levels between them (86.8 ± 60.2 vs. 729.6 ± 461.5 pg/mL). FGF-21 levels correlated inversely with RRF and Kt/V and positively with PD duration. Contrary to our results, these authors found a significant correlation between FGF-21 levels and insulinemia and HOMA-IR. In another study, Ulu et al. [7] studied FGF-21 levels in 56 prevalent continuous ambulatory PD patients (28 ± 12 months on PD), but they did not analyze glucose homeostasis parameters.

Although we only found a significant reduction of HOMA-IR at the second year, our study was performed on incident PD patients and they were only followed-up for 3 years, so we

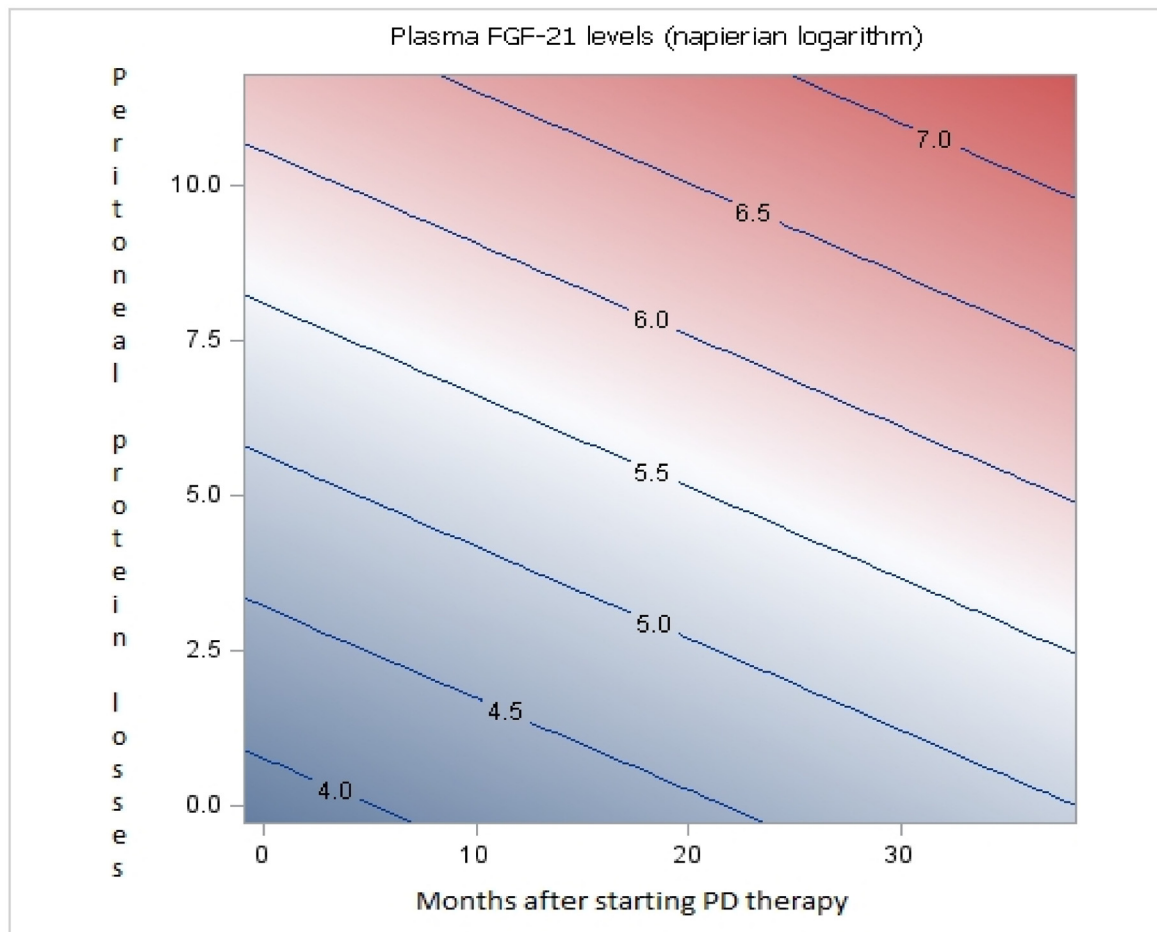


Fig 3. Contour plot representing the association between plasma FGF-21 levels, peritoneal protein losses and time on PD. Contour plot representing the independent association between plasma FGF-21 levels (Napierian logarithm) represented by the blue lines, peritoneal protein losses (Y-axis) and time on PD (X-axis). This contour plot indicates the FGF-21 value expected according to time on PD and peritoneal protein losses.

doi:10.1371/journal.pone.0151698.g003

cannot rule out the possibility that other glucose homeostasis parameters could be modified with time.

There have been some other studies performed on stage 5 chronic kidney disease (CKD) in non-dialysis patients. Lin et al. [10] studied FGF-21 levels in 240 Chinese patients (200 patients in different stages of CKD and 40 healthy controls) and found that FGF-21 was significantly increased with the development of early- to end-stage CKD. The median and IQ in patients with an estimated glomerular filtration rate <30 ml/min was 1098.8 (523.1 to 2467.8), although there were also 54 long-term hemodialysis patients in this group, therefore, comparison of these results with ours is not possible. They also found significant differences in blood glucose, HOMA and insulin levels between the different stages of CKD, overall, with the prevalence of diabetes (46.6% in end-stage CKD versus 19.7% in early-stage CKD).

Glucose has long been employed as the sole osmotic agent in PD therapy, although there are some clinical concerns associated with the use of glucose-based PD solutions. Studies performed to determine the absorption of glucose from the peritoneal cavity suggest that approximately 60%–80% of the glucose instilled into the peritoneal cavity is absorbed during a 6-hour dwell, varying between 25 g and 60 g, according to the solution. PD patients are estimated to absorb 100–300 g of glucose per day through their dialysate. The peritoneal membrane of fast

transporters (creatinine D/P greater than 0.80) presents a large effective peritoneal surface area or higher intrinsic membrane permeability, and these patients absorb large quantities of glucose into their circulation. Uremic patients have abnormal glucose and insulin metabolism and this glucose load could contribute to some metabolic abnormalities such as hyperinsulinemia or reduced peripheral sensitivity to insulin [14].

FGF-21 stimulates glucose uptake independently of insulin action [1]. Therefore, the absence of an increase in insulinemia and HOMA-IR in our PD patients, along with the increment in FGF-21 levels from the first year, allow us to speculate that FGF-21 might be implicated, in some way, in overcoming and compensating for the tendency to glucose-load-induced hyperinsulinemia and increased insulin resistance that PD patients exhibit. This finding confirms the results of another study performed by our group that did not find increments in HOMA-IR values in patients in the first year on PD [19].

Our data appear to confirm the hypothesis that FGF-21 plasma levels have a natural history that varies over time on PD. FGF-21 production might be induced by daily peritoneal glucose overload, which is regulated by peritoneal transport characteristics [20,21]. Therefore, patients who absorb more glucose, due to a more permeable peritoneum, could promote greater FGF-21 production. During the first 2 years on PD, the primary influence on FGF-21 levels might be peritoneal glucose absorption, which is related to peritoneal permeability to small and large molecules. Our data confirm that FGF-21 plasma levels in PD patients are significant and are directly influenced by the peritoneal transport of large molecules and independently, to an almost significant level, of small molecules. An increase in sample size would probably confirm a significant relationship between peritoneal function (measured by creatinine D/P, and Cr-MTC) and FGF-21 plasma levels.

FGF-21 levels are independently associated with RRF at the time of starting PD therapy. We subsequently did not find an association between small changes in RRF and FGF-21 levels during our study, with the exception that anuria determines an additional and independent increase in plasma FGF-21 levels, probably due to retention caused by the lack of kidney excretion.

The lack of information on the influence of dialysate glucose on FGF-21 encouraged us to perform this pilot study. The sample size, and the difficulty of measuring these markers, is the primary limitations of our study. Other limitation is that FGF-21 was measured only annually, so the pattern could have been more accurate with shorter periods between measurements. We also recognize that we only analyzed patients who had all the measurements, so it is possible that those with shorter time in dialysis had a different FGF-21 pattern. Due to these limitations, the results should be interpreted with caution. On the other hand, we were able to identify statistically significant associations between FGF-21 levels and time on PD therapy, PPL and RRF. Nevertheless, the possibility of including FGF-21 as a new marker to predict or measure insulin resistance in patients at high risk, such as those on PD, should be considered when designing further clinical studies to confirm and further explain these results.

Our study shows that FGF-21 plasma levels in incident PD patients significantly increase during the first 3 years. This increment is dependent on or associated with RRF and PPL (higher levels in patients with lower RRF and higher PPL). The absence of increments in insulin resistance parameters despite a sustained peritoneal glucose load suggest that FGF-21 might be an important endocrine agent in PD patients that could possibly act as hormonal signaling to maintain glucose homeostasis and prevent potential insulin resistance.

In conclusion, these preliminary results suggest that FGF-21 might be protective against the development of insulin resistance over time in patients undergoing a continuous glucose load.

The mechanisms involved in the maintenance of insulin sensitivity in PD patients require further investigation.

Supporting Information

S1 Fig. Individual Napierian logarithm FGF-21 values in the entire series.
(TIF)

Acknowledgments

We thank Rosario Madero Jarabo for her assistance in the statistical revision.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: EG JJD MAB PI RS. Performed the experiments: CG OR. Analyzed the data: EG MDA. Contributed reagents/materials/analysis tools: CG RS. Wrote the paper: EG JJD MAB GP PI RS.

References

1. Iglesias P, Selgas R, Romero S, Díez JJ. Biological role, clinical significance, and therapeutic possibilities of the recently discovered metabolic hormone fibroblastic growth factor 21. *Eur J Endocrinol*. 2012 Sep; 167(3):301–9. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22740503>. doi: [10.1530/EJE-12-0357](https://doi.org/10.1530/EJE-12-0357) PMID: [22740503](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22740503/)
2. Ohta H, Konishi M, Itoh N. FGF10 and FGF21 as regulators in adipocyte development and metabolism. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2011 Dec; 11(4):302–9. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21696361>. PMID: [21696361](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21696361/)
3. Kharitonov A. FGFs and metabolism. *Curr Opin Pharmacol*. Elsevier Ltd; 2009 Dec; 9(6):805–10. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19683963>.
4. Kralisch S, Fasshauer M. Fibroblast growth factor 21: effects on carbohydrate and lipid metabolism in health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2011 Jul; 14(4):354–9. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21505329>. doi: [10.1097/MCO.0b013e328346a326](https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328346a326) PMID: [21505329](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21505329/)
5. Cuevas-Ramos D, Aguilar-Salinas C a, Gómez-Pérez FJ. Metabolic actions of fibroblast growth factor 21. *Curr Opin Pediatr*. 2012 Aug; 24(4):523–9. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22732636>. doi: [10.1097/MOP.0b013e3283557d22](https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e3283557d22) PMID: [22732636](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22732636/)
6. Semba RD, Sun K, Egan JM, Crasto C, Carlson OD, Ferrucci L. Relationship of serum fibroblast growth factor 21 with abnormal glucose metabolism and insulin resistance: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Apr; 97(4):1375–82. Available: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3319186&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. doi: [10.1210/jc.2011-2823](https://doi.org/10.1210/jc.2011-2823) PMID: [22344195](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22344195/)
7. Ulu SM, Yuksel S, Altuntaş A, Kacar E, Ahsen A, Altug A, et al. Associations between serum hepcidin level, FGF-21 level and oxidative stress with arterial stiffness in CAPD patients. *Int Urol Nephrol*. 2014 Dec; 46(12):2409–14. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24908281>. doi: [10.1007/s11255-014-0753-7](https://doi.org/10.1007/s11255-014-0753-7) PMID: [24908281](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24908281/)
8. Han SH, Choi SH, Cho BJ, Lee Y, Lim S, Park YJ, et al. Serum fibroblast growth factor-21 concentration is associated with residual renal function and insulin resistance in end-stage renal disease patients receiving long-term peritoneal dialysis. *Metab Clin Exp*. Elsevier Inc.; 2010 Nov; 59(11):1656–62. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20423749>.
9. Olauson H, Larsson TE. FGF23 and Klotho in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2013; 22:397–404. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23666415>. doi: [10.1097/MNH.0b013e32836213ee](https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e32836213ee) PMID: [23666415](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23666415/)
10. Lin Z, Zhou Z, Liu Y, Gong Q, Yan X, Xiao J, et al. Circulating FGF21 levels are progressively increased from the early to end stages of chronic kidney diseases and are associated with renal function in Chinese. *PLOS ONE*. 2011 Jan; 6(4):e18398. Available: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3078122&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. doi: [10.1371/journal.pone.0018398](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018398) PMID: [21525989](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21525989/)
11. Han SH, Lee SC, Kang EW, Park JK, Yoon HS, Yoo T-H, et al. Reduced Residual Renal Function is Associated with Endothelial Dysfunction in Patients Receiving Peritoneal Dialysis. *Perit Dial Int*. 2012; 32(April 2010):149–58.
12. Hindricks J, Ebert T, Bachmann A, Kralisch S, Lössner U, Kratzsch J, et al. Serum levels of fibroblast growth factor-21 are increased in chronic and acute renal dysfunction. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014 Jun; 80(6):918–24. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24612017>.

13. Crasto C, Semba RD, Sun K, Ferrucci L. Serum fibroblast growth factor 21 is associated with renal function and chronic kidney disease in community-dwelling adults. *J Am Geriatr Soc*. 2012 Apr; 60(4):792–3. Available: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3325515&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. doi: 10.1111/j.1532-5415.2011.03879.x PMID: 22494291
14. Holmes CJ, Shockley TR. Strategies to reduce glucose exposure in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int*. 2000 Jan; 20 Suppl 2:S37–41. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10911641>. PMID: 10911641
15. Twardoski ZJ, Nolph KD K R. Peritoneal equilibration test. *Perit Dial Bull*. 1987; 7:138–47.
16. Selgas R, Bajo MA, Cirugeda A, del Peso G, Valdés J, Castro MJ, et al. Ultrafiltration and small solute transport at initiation of PD: questioning the paradigm of peritoneal function. *Perit Dial Int*. Jan; 25(1):68–76. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15770928>. PMID: 15770928
17. Selgas R, Fernandez-Reyes MJ, Bosque E, Bajo MA, Borrego F, Jimenez C, et al. Functional longevity of the human peritoneum: how long is continuous peritoneal dialysis possible? Results of a prospective medium long-term study. *Am J Kidney Dis*. 1994 Jan; 23(1):64–73. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8285200>. PMID: 8285200
18. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985 Jul; 28(7):412–9. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3899825>. PMID: 3899825
19. Sánchez-Villanueva R, Estrada P, del Peso G, Grande C, Díez JJ, Iglesias P, et al. Repeated analysis of estimated insulin resistance using the HOMAIR index in non-diabetic patients on peritoneal dialysis and its relationship with cardiovascular disease and mortality. *Nefrologia*. 2013 Jan 18; 33(1):85–92. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23364630>. doi: 10.3265/Nefrologia.pre2012.Nov.11430 PMID: 23364630
20. Krediet RT. Peritoneal dialysis: from bench to bedside. *Clin Kidney J*. 2013 Oct 14; 6(6):568–77. Available: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4438370&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. doi: 10.1093/ckj/sft122 PMID: 26120456
21. Wu H-Y, Hung K-Y, Huang T-M, Hu F-C, Peng Y-S, Huang J-W, et al. Safety issues of long-term glucose load in patients on peritoneal dialysis—a 7-year cohort study. *PLOS ONE*. Public Library of Science; 2012 Jan; 7(1):e30337. Available: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0030337>.

DISCUSIÓN

4.- DISCUSIÓN

Los pacientes con enfermedad renal en diálisis presentan un importante incremento de mortalidad, sobre todo, de origen CV. Este aumento no se explica completamente por los factores de riesgo CV “tradicionales”, por lo que cada vez ganan mayor importancia nuevos factores “no-tradicionales”. Los estudios que han dado lugar a esta tesis analizan, por primera vez y de forma extensa, varios factores de riesgo que podrían influir en este incremento del riesgo CV.

La inflamación sistémica es una característica clínica habitual en los pacientes en diálisis. Esta inflamación es multifactorial en su origen, relacionándose entre otros con la pérdida de la función renal, las comorbilidades o el propio procedimiento de diálisis. Sus consecuencias abarcan un amplio abanico de procesos fisiopatológicos, como el síndrome malnutrición-inflamación, la calcificación vascular y disfunción endotelial, o la resistencia a la insulina. La inflamación constituye un factor de riesgo independiente de mortalidad en los pacientes con ERC o en diálisis.

En el primer artículo de esta tesis revisamos las diferentes causas por las que los pacientes en diálisis presentan un incremento en los parámetros inflamatorios y las diferentes consecuencias de este hecho. La inflamación crónica se caracteriza por la presencia persistente de estímulos pro-inflamatorios, lo que termina produciendo destrucción celular y tisular, con los consiguientes efectos deletéreos en el organismo. Aunque las causas relacionadas con la inflamación urémica no han sido totalmente dilucidadas, son muchos y variados los factores que se han relacionado con un aumento en la

inflamación sistémica en estos pacientes. En primer lugar, las infecciones intercurrentes son una de las principales causas de esta elevación. Además, la propia disminución de la función renal residual (FRR) parece estar asociada con la inflamación, e incluso cambios mínimos en la FRR parecen influir en ella. Por otro lado, existen numerosos estudios relacionando la propia técnica de diálisis con un aumento de la inflamación (101–105).

El riñón es uno de los principales moduladores de la función endocrina y una importante diana para numerosas hormonas. Por ello, el estado urémico se asocia con alteraciones en la síntesis hormonal o funcionamiento de diversos sistemas hormonales (106). Este desequilibrio puede verse agravado por un estado de inflamación persistente, debido, entre otras causas, a la alteración en la depuración de toxinas urémicas (107–109). Éstas son un grupo heterogéneo de sustancias, consistentes principalmente en compuestos orgánicos o péptidos, con capacidad de modificar funciones bioquímicas y/o fisiológicas en el organismo. Se clasifican en 3 grandes grupos:

- De bajo peso molecular (<500 Da), como la urea, guanidinas (guanidina, ADMA), polioles (sorbitol, manitol) o purinas (úrico, xantina)
- Unidos a proteínas, como la homocisteína, fenoles, AGEs, indoles, péptidos y poliaminas
- De peso molecular medio (> 500 Da < 60 kDa), destacando los péptidos (beta-2-microglobulina, PTH y fragmentos, leptina, cadenas ligeras, endotelina, etc.) y las citocinas pro-inflamatorias (IL-1, IL-6, TNF).

En los últimos años, cada vez esta cobrando mayor importancia, el papel de las toxinas uremicas de producción endógena (a través de los procesos de putrefacción intestinal), como los fenoles (p-cresol y el p-cresilsulfato) (110,111).

Estudios prospectivos en pacientes con diferentes estadios de ERC o en diálisis, han demostrado que la seriación de mediadores inflamatorios es capaz de predecir, de manera independiente, la mortalidad en estos pacientes. Existe una alta variabilidad intra e inter-individual en estos mediadores inflamatorios, sobre todo de los inespecíficos como la proteína C reactiva, que parece aun mayor en los pacientes con ERC.

Con estos hallazgos, se eligieron los principales puntos a estudiar a lo largo de la tesis. En primer lugar, con el objetivo de intentar estimar el estado de estrés oxidativo en los pacientes en DP y su variación a lo largo de un periodo de tiempo, realizamos la medición de los AOPPs plasmáticos, así como su posible relación con el estado CV. Pudimos comprobar que el incremento de sus niveles a lo largo del tiempo, independientemente de los antecedentes previos del paciente, se relaciona con un incremento del riesgo de presentar un evento CV *de novo*. Esta asociación entre el incremento de los AOPPs y la enfermedad CV también ha sido descrita en pacientes con ERC (112,113) y en HD (114).

Los valores medios de los AOPPs en nuestros estudios fueron similares a los descritos en estudios previos que utilizaron la misma metodología (114,115). Este es el primer estudio realizado en pacientes en DP en el que se han evaluado medidas seriadas a lo largo de un año. Al igual que otros marcadores como la PCR (116), parece que los valores plasmáticos de los AOPPs tendrían mayor valor clínico con la seriación periódica que con la medición de valores aislados, ya que el incremento progresivo de sus valores sería un indicador de un estatus

pro-oxidante y, por tanto, un indicador de un riesgo elevado de evento CV. Este estado pro-oxidante en los pacientes en diálisis podría explicar parcialmente el incremento de la mortalidad CV que presentan estos pacientes respecto a la población general.

Los AOPPs tienen capacidad de actuar no solo como mediadores inflamatorios, sino también como verdaderas toxinas urémicas con efectos pro-inflamatorios, agravando el estado inflamatorio de estos pacientes.

El estrés oxidativo constituye el mecanismo patogénico inicial de muchos otros factores de riesgo CV, adquiriendo un papel predominante en la génesis de la enfermedad CV. La inflamación es una manifestación del estrés oxidativo en la mitocondria causado por la sobregeneración de radicales libres, y el paso inicial para la creación de otros mediadores inflamatorios, como las interleuquinas o las moléculas de adhesión, que a su vez, incrementan el nivel de inflamación sistémica y de estrés oxidativo.

La obesidad es un estado inflamatorio crónico . En los últimos años, se han publicado algunos estudios que relacionan la obesidad con el incremento del estrés oxidativo (117), en general, y con el aumento de los niveles de AOPPs en particular (118,119). En la búsqueda de fuentes de estrés oxidativo, nos propusimos analizar si existe una ganancia de la grasa abdominal en los pacientes en diálisis, lo que constituiría un factor de riesgo CV añadido. Para ello, elegimos inicialmente, por agrupamiento logístico, una cohorte de pacientes en HD, al ser a priori el grupo con menos posibilidades de presentar esta ganancia, para poder estudiar la influencia de la técnica. Además, varios trabajos previos ya han descrito la existencia de un incremento de la grasa intra-

abdominal en los pacientes en DP, estimada tanto por BIA (120) como por DXA ó TAC (121).

Sorprendentemente, los resultados de nuestro estudio mostraron una ganancia de grasa en los pacientes en HD a lo largo del tiempo, incluso en periodos de seguimiento limitados a un año. Además, esta ganancia era claramente de distribución abdominal. La explicación de este fenómeno es difícil y nuestros resultados no nos han permitido identificar ningún mecanismo que lo explique adecuadamente.

Según los estudios realizados por Vague acerca de los patrones de distribución de la MG (122) y su asociación con alteraciones metabólicas, la distribución androide o de predominio abdominal, de la grasa corporal es la que tiene una mayor trascendencia desde el punto de vista clínico, dada su asociación con el aumento del riesgo CV (3). El exceso de grasa abdominal (androide) se asocia con la existencia de diversos factores de riesgo CV (123). La determinación del cociente A/G mediante DXA es una herramienta simple y práctica para valorar la distribución de la grasa pélvica. Esta relación puede tener un papel para valorar el riesgo CV en los pacientes con exceso de peso (124,125).

El medio urémico contribuye a la retención de las adipocitoquinas, la inflamación sistémica, al estrés oxidativo y a la resistencia a la insulina (126,127). Además, la uremia induce una lipogénesis disminuida y un aumento de la lipólisis, lo que promueve la redistribución de la grasa corporal. Nuestros resultados en los pacientes de HD mostraron un aumento estadísticamente significativo de los niveles plasmáticos de leptina y una disminución de los de adiponectina, incluso tras ajustar sus niveles por el IMC. Cabe resaltar

especialmente los elevados niveles de adiponectina detectados en nuestros pacientes, que algunos estudios relacionan con un incremento de la mortalidad (128). Pudimos comprobar que los cambios a lo largo del seguimiento en los parámetros de composición corporal guardaban una relación con los cambios en las concentraciones de adipocitoquinas analizadas, principalmente con la leptina y adiponectina.

Un objetivo secundario de este estudio fue validar los datos obtenidos por BIA (técnica usada habitualmente en la práctica clínica) con los obtenidos por la DXA (gold standard para el estudio de la composición corporal). Evaluamos el grado de concordancia existente entre la medición de la masa grasa en 29 pacientes de HD estimada por bioimpedancia de monofrecuencia y la estimada por otras técnicas de composición corporal (Bioimpedancia multifrecuencia y absorciometría dual de rayos X), encontrando una concordancia del 95% entre ambas técnicas de bioimpedancia y del 85-90% con la DXA, según la región analizada.

Nuestros datos sugieren la existencia de una buena correlación entre los parámetros de composición corporal (porcentaje de masa grasa) obtenidos entre ambas técnicas, pero la BIA no aporta información sobre la distribución de la grasa corporal.

Existe además una relación entre la obesidad y la RI (129–131). Con el propósito de estudiar los efectos de la DP sobre parámetros de resistencia insulínica y su influencia sobre la aparición de eventos CV y mortalidad en un grupo de pacientes en DP no diabéticos, estudiamos varios marcadores de RI y sus factores moduladores.

En pacientes en DP, el desarrollo de RI se atribuye a la gran cantidad de glucosa absorbida desde los líquidos de diálisis, lo que contribuye a otras alteraciones metabólicas como la obesidad central, hipertrigliceridemia, y diabetes *de novo*. Además se podría inducir la hipersecreción de adipocitoquinas que perpetuarían el hiperinsulinismo y sus efectos metabólicos y sistémicos deletéreos. En nuestro estudio en un grupo de pacientes en DP, las concentraciones medias de glucosa, insulina y RI medida por el HOMA-IR y QUICKI fueron similares en situación basal y al año de seguimiento tanto en pacientes incidentes como en prevalentes. Además, no evidenciamos diferencias significativas en relación con la comorbilidad CV, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca o comorbilidad vascular cerebral, ni en función del índice HOMA-IR, ni en los niveles de insulina. Tampoco encontramos diferencias en el índice HOMA-IR ni en el QUICKI en función de las diferentes concentraciones de glucosa de las soluciones de DP utilizadas. Bernardo y cols. (132) encontraron que el índice HOMA-IR se asociaba con el porcentaje de masa grasa por BIA y, en pacientes obesos, con los niveles de leptina y el cociente de leptina/adiponeptina. Tampoco encontraron relación con la absorción de glucosa, los índices de resistencia a la insulina o el estado de rápido transportador.

En otro estudio, Gürsu y cols. (133) estudiaron en 41 pacientes en DP no diabéticos, los cambios en el índice HOMA-IR en función de las soluciones de DP utilizadas (3 cambios al 1,36% y 1 al 2,27% vs 3 cambios al 1,36% y 1 extraneal), encontrando que el índice HOMA-IR era significativamente menor en el grupo de icodextrina comparado con el de glucosa ($2,28 \pm 1,67$ vs. $4,26 \pm 3,27$, $p = 0,027$), al igual que los niveles de insulina. Además, se encontró una correlación entre el HOMA-IR y el IMC en ambos grupos.

Además, los valores de HOMA-IR encontrados en nuestro estudio se encontraban dentro de los límites de la normalidad de la población española (134). Estos datos parecen confirmar que los pacientes no diabéticos en DP no presentan una elevación significativa de los niveles de HOMA-IR con respecto a la población general, y que este hecho no se modifica con el tiempo en diálisis, al menos en un año de seguimiento. En nuestro análisis de supervivencia no encontramos diferencias estadísticamente significativas en los índices de RI, ni tampoco al clasificar los pacientes en función de los valores medianos de HOMA-IR. Probablemente, otros aspectos característicos de estos pacientes, como la edad o la comorbilidad, tengan más peso en su supervivencia que la resistencia a la insulina.

Tras estos resultados, decidimos estudiar el comportamiento del FGF-21 (agente con comportamiento insulino-mimético) en los pacientes en DP a lo largo de 3 años de seguimiento, y su relación con la homeostasis de la glucosa. Este es el primer estudio de estas características realizado hasta el momento. Como otros marcadores de riesgo, y a falta de un rango de normalidad validado, consideramos que la seriación continuada es el mejor método de estudio, sobre las mediciones aisladas. Pudimos comprobar como los 3 primeros años en DP se acompañan con un incremento inicial y sostenido de los niveles plasmáticos del FGF-21 en los pacientes no diabéticos. Al igual que en nuestro estudio previo, no encontramos diferencias significativas en los diferentes parámetros de la homeostasis de la glucosa (HOMA-IR, glucosa basal, insulina, etc) durante el seguimiento. Dado que el estudio se realizó en pacientes incidentes y que el seguimiento fue de 3 años, no podemos descartar que dichas alteraciones no pudieran aparecer a más largo plazo, como han objetivado algunos estudios

realizados en pacientes prevalentes en DP (135,136), a pesar que estos estudios no alcanzan el mismo peso de evidencia.

El incremento en los niveles de FGF-21 se podría explicar por su acción estimuladora de la captación de glucosa, independientemente de la acción de la insulina, lo que concordaría con nuestros hallazgos. Una posible explicación de esta elevación del FGF-21 es que sería un mecanismo compensador de la tendencia a la hiperinsulinemia inducida por las sobrecargas de glucosa aportadas por los líquidos de diálisis. Al estar el incremento del FGF-21 relacionado con la permeabilidad de la membrana peritoneal y la capacidad de absorción de glucosa, parece verosímil plantear la posibilidad de que dicha permeabilidad contribuya a los efectos hepáticos de la glucosa vía porta. Los pacientes con un peritoneo más permeable, al absorber más cantidad de glucosa, producirían mayores niveles de FGF-21.

Los estudios que han dado lugar a esta Tesis Doctoral analizan, por primera vez y de forma extensa, varios factores de riesgo cardiovascular “no-tradicionales” en los pacientes en diálisis. Como fortalezas de esta Tesis podemos señalar el diseño longitudinal de algunos de los estudios realizados, la novedad en los parámetros seleccionados a la vez que se mantienen las condiciones de la práctica clínica habitual en el diseño, así como el largo tiempo de seguimiento en varios de los estudios.

El escaso tamaño muestral, diferentes problemas logísticos y la dificultad para la medición de los parámetros, son las principales limitaciones de nuestros estudios. Además, los estudios están realizados sobre pacientes no pareados y existe una disparidad en el diseño de los diferentes estudios debido a las

dificultades de la propia práctica clínica (salida de los pacientes de la técnica debido a trasplante, exitus, etc.).

Hemos encontrado asociaciones estadísticamente significativas entre la ganancia de grasa abdominal, los AOPPs y los niveles de FGF-21 con la mortalidad CV o al menos, con factores de riesgo reconocidos, por lo que nuestra conclusión es que estos parámetros deberían ser tenidos en cuenta en la práctica clínica. Además, el carácter prospectivo de algunos de nuestros estudios, refuerza los resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

5.- CONCLUSIONES FINALES

1. Estrés oxidativo:

El incremento del estrés oxidativo constituye un factor de riesgo CV. Puede ser estimado mediante la medición de niveles plasmáticos de AOPPs en el primer año de DP y se relaciona con la posibilidad de presentar un evento CV, independientemente de los antecedentes del paciente. Los AOPPs podrían constituir un marcador del estado de riesgo CV en los pacientes de alto riesgo en diálisis.

2. Análisis de la grasa corporal y adipocitoquinas

2.1. Existe una ganancia de grasa en general, y de localización abdominal en particular, según aumenta la permanencia de los pacientes en HD lo que podría explicar, al menos en parte, el aumento del riesgo CV que presentan estos pacientes. El cociente A/G es el parámetro más sensible para estimar dicho riesgo. Nuestro estudio no permite aclarar las causas de este incremento de grasa abdominal.

2.2. Existe una buena correlación entre los diferentes métodos de valoración de la composición corporal, la BIA (utilizada en la práctica clínica) y la DXA (gold standard).

2.3. Nuestros datos muestran un aumento de leptina y un descenso de adiponectina, cociente que refleja el aumento de grasa a lo largo del tiempo

3. Resistencia insulínica y FGF-21

Los niveles plasmáticos del FGF-21 se elevan significativamente durante los 3 primeros años en DP (sobre todo, durante el primer año). Este incremento se relaciona inversamente con la pérdida de función renal residual y directamente con las pérdidas proteicas peritoneales. La ausencia de elevación observada en los parámetros de resistencia a la insulina estudiados a pesar de la carga de glucosa a la que se exponen diariamente los pacientes en DP, sugieren que el FGF-21 podría ser un importante agente endocrino en estos pacientes, que jugase un papel en la señalización hormonal para mantener la homeostasis de la glucosa y contrarrestar la aparición de resistencia a la insulina. En resumen, el FGF-21 tendría un papel protector frente al desarrollo de RI en el tiempo en estos pacientes de alto riesgo.

4.- Conclusión final

El aumento de grasa abdominal en diálisis, reflejado por el incremento del cociente leptina/adiponectina en el tiempo, el constante incremento de stress oxidativo por el aumento de la inflamación del tejido adiposo, el aporte de glucosa via peritoneal en DP y la tendencia urémica a la resistencia insulínica, configuran un estado de alto riesgo CV. De los factores estudiados, solo el FGF-21 podría ejercer acciones parcialmente neutralizadoras de este riesgo.

Los factores de riesgo no clásicos ejercen un efecto sobre el desarrollo de enfermedad CV en los pacientes en diálisis y, por tanto, deberían ser valorados junto a los factores “tradicionales” en la práctica diaria a la hora de estimar el riesgo global de morbilidad y mortalidad CV en estos pacientes.

PERSPECTIVAS FUTURAS

6.- IMPLICACIONES CLÍNICAS Y PERSPECTIVAS FUTURAS

En estos estudios, pretendimos encontrar y analizar la relación entre algunos factores de riesgo no clásicos y la aparición de eventos CV y mortalidad en los pacientes en tratamiento renal sustitutivo. El aumento de grasa abdominal en diálisis, el constante incremento de stress oxidativo, el aporte de glucosa via peritoneal en DP y la tendencia urémica a la RI, configuran un estado de alto riesgo CV. Solo el FGF-21 parece neutralizar al menos parcialmente este riesgo de entre todos los factores estudiados.

Con los hallazgos de nuestro estudio, el FGF-21 parece propugnarse como un agente parcialmente protector frente al estado de RI que presentan los pacientes en diálisis, pero todavía existen numerosos interrogantes sobre su comportamiento en los pacientes con ERC en estadios más precoces, así como en los pacientes diabéticos con buen control metabólico. Otro interrogante pendiente es la contribución del descanso peritoneal, y sus efectos positivos sobre la membrana peritoneal, sobre los niveles de FGF-21. Esta sería una oportunidad para confirmar la relación causa-efecto entre absorción de glucosa peritoneal y producción hepática de FGF21 .

Por otra parte, aún esta pendiente por realizar el estudio de cohortes para la medición del incremento de la grasa abdominal en los pacientes en diálisis peritoneal, con el objetivo de estudiar si existen diferencias con los resultados obtenidos en los pacientes en HD. Además, otro campo pendiente de estudio

son las causas implicadas en el incremento de la grasa abdominal en los pacientes en HD (y posiblemente también en los de DP)

El mejor conocimiento de estos nuevos factores de riesgo CV y la influencia del medio urémico en su desarrollo podría ser útil en un futuro en la práctica clínica habitual, para el mejor control de la morbi-mortalidad CV en la población con ERC en diálisis.

BIBLIOGRAFÍA

7.- BIBLIOGRAFÍA

1. Martín de Francisco, A.L., Piñera C., Gago M., Ruiz J., Robledo C. AM. Epidemiología de la enfermedad renal crónica en pacientes no nefrológicos. *Nefrología*. 2009;29(5):101–5.
2. Lorenzo-Sellarés V. Enfermedad Renal Crónica. In: Lorenzo-Sellarés V L-GJ, editor. *Nefrología al Día*. Sociedad Española de Nefrología; 2012.
3. Go AS, Chertow GM, Fan DJ, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic Kidney Disease and the Risks of Death, Cardiovascular Events, and Hospitalization. *N Engl J Med*. 2004;351(13):1296–305.
4. Tonelli M, Wiebe N, Culleton B, House A, Rabbat C, Fok M, et al. Chronic kidney disease and mortality risk: a systematic review. *J Am Soc Nephrol*. 2006 Jul 1;17(7):2034–47.
5. Levey AS, Coresh J, Bolton K, Culleton B, Harvey KS, Ikizler TA, et al. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: Evaluation, classification, and stratification. *Am J kidney Dis*. 2002;39(2 Suppl. 1).
6. Di Angelantonio E, Chowdhury R, Sarwar N, Aspelund T, Danesh J, Gudnason V. Chronic kidney disease and risk of major cardiovascular disease and non-vascular mortality: prospective population based cohort study. *BMJ*. 2010;341:c4986.
7. Stenvinkel P, Carrero JJ, Axelsson J, Lindholm B, Heimbürger O, Massy Z, et al. Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in the chronic kidney disease patient: How do new pieces fit into the uremic puzzle? *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008 Feb 20;3(14):505–21.
8. Alani H, Tamimi A, Tamimi N. Cardiovascular co-morbidity in chronic kidney disease: Current knowledge and future research needs. *World J Nephrol*. 2014 Nov 6;3(4):156–68.
9. Lorenzo-Sellarés V. Principios físicos: definiciones y conceptos. In: Lorenzo-Sellarés V L-GJ, editor. *Nefrología al día*. Sociedad Española de Nefrología; 2012. p. 355–68.
10. F. Coronel Díaz; M. Macía Heras. Diálisis peritoneal: definición, membrana, transporte peritoneal, catéteres, conexiones y soluciones de diálisis. In: *Nefrología al día*. Sociedad Española de Nefrología; 2012.
11. Welten AGA, Schalkwijk CG, ter Wee PM, Meijer S, van den Born J, Beelen RJH. Single exposure of mesothelial cells to glucose degradation products (GDPs) yields early advanced glycation end-products (AGEs) and a proinflammatory response. *Perit Dial Int*. Jan;23(3):213–21.
12. Schwenger V, Morath C, Salava A, Amann K, Seregin Y, Deppisch R, et al. Damage to the peritoneal membrane by glucose degradation products is mediated by the receptor for advanced glycation end-products. *J Am Soc*

- Nephrol. 2006 Jan;17(1):199–207.
13. Misra M, Khanna R. Mechanisms of solute clearance and ultrafiltration in peritoneal dialysis [Internet]. Uptodate. 2013 [cited 2015 Oct 9]. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/mechanisms-of-solute-clearance-and-ultrafiltration-in-peritoneal-dialysis>
 14. Twardoski ZJ, Nolph KD KR. Peritoneal equilibration test. *Perit Dial Bull.* 1987;7:138–47.
 15. Daugirdas JT, Blake PG IT. Transport Status: Classification and Implications. In: *Handbook of Dialysis*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. p. 330–7.
 16. Selgas R, Fernandez-Reyes MJ, Bosque E, Bajo MA, Borrego F, Jimenez C, et al. Functional longevity of the human peritoneum: how long is continuous peritoneal dialysis possible? Results of a prospective medium long-term study. *Am J Kidney Dis.* 1994 Jan;23(1):64–73.
 17. Selgas R, Bajo MA, Cirugeda A, del Peso G, Valdés J, Castro MJ, et al. Ultrafiltration and small solute transport at initiation of PD: questioning the paradigm of peritoneal function. *Perit Dial Int.* Jan;25(1):68–76.
 18. Coester AM, Smit W, Struijk DG, Krediet RT. Peritoneal function in clinical practice: the importance of follow-up and its measurement in patients. Recommendations for patient information and measurement of peritoneal function. *Clin Kidney J.* 2009 Jan 15;2(2):104–10.
 19. Wieslander a P. Cytotoxicity of peritoneal dialysis fluid - is it related to glucose breakdown products? *Nephrol Dial Transplant.* 1996;11(6):958–9.
 20. Boulanger E, Daroux M. Peritoneal aging during PD: implication of RAGE, the receptor for AGEs. *Nefrología.* 2008 Jan;28 Suppl 6:5–10.
 21. Nakamura S, Niwa T. Advanced glycation end-products and peritoneal sclerosis. *Semin Nephrol.* 2004 Sep;24(5):502–5.
 22. Fernandez Lucas M, Teruel Briones JL. Técnicas de hemodiálisis. *Nefrología.* 2010;chapter 28:1–9.
 23. Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature.* Jan;420(6917):846–52.
 24. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature.* 2008 Jul 24;454(7203):428–35.
 25. Cohen G, Haag-Weber M, Hörl WH. Immune dysfunction in uremia. *Kidney Int Suppl.* 1997 Nov;62:S79-82.
 26. Vanholder R, Massy Z, Argiles A, Spasovski G, Verbeke F, Lameire N. Chronic kidney disease as cause of cardiovascular morbidity and mortality.

- Nephrol Dial Transplant. 2005 Jun;20(6):1048–56.
27. Van Biesen W, De Bacquer D, Verbeke F, Delanghe J, Lameire N, Vanholder R. The glomerular filtration rate in an apparently healthy population and its relation with cardiovascular mortality during 10 years. *Eur Heart J*. 2007 Feb;28(4):478–83.
 28. Mimić-Oka J, Simić T, Djukanović L, Reljić Z, Davicević Z. Alteration in plasma antioxidant capacity in various degrees of chronic renal failure. *Clin Nephrol*. 1999 Apr;51(4):233–41.
 29. Steffel J, Lüscher TF. Predicting the development of atherosclerosis. *Circulation*. 2009 Feb 24;119(7):919–21.
 30. De Caterina R. Endothelial dysfunctions: common denominators in vascular disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2000 Nov;3(6):453–67.
 31. Locatelli F, Canaud B, Eckardt K-U, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18:1272–80.
 32. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*. 2004 May;142(2):231–55.
 33. Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Jungers P, Drü TB, Descamps-Latscha B. Nephrology Dialysis Transplantation Advanced oxidation protein products as a novel molecular basis of oxidative stress in uraemia. *Nephrol Dial Transpl*. 1999;14:76–8.
 34. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen a T, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int*. 1996;49:1304–13.
 35. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. *Kidney Int Suppl*. 2001 Feb;78:S108-13.
 36. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998 Jul;15(7):539–53.
 37. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005 Oct 25;112(17):2735–52.
 38. Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet*. Jan;366(9491):1059–62.
 39. Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic

- syndrome among u.s. Adults. *Diabetes Care*. 2004 Oct;27(10):2444–9.
40. Navaneethan SD, Schold JD, Kirwan JP, Arrigain S, Jolly SE, Poggio ED, et al. Metabolic syndrome, ESRD, and death in CKD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013 Jun;8(6):945–52.
 41. Metabolic Syndrome ePoster [Internet]. [cited 2015 Oct 10]. Available from: http://www.nature.com/nm/e-poster/eposter_full.html
 42. Prasad GVR. Metabolic syndrome and chronic kidney disease: Current status and future directions. *World J Nephrol*. 2014 Nov 6;3(4):210–9.
 43. Velasco PLDP, Martín FJM. Significado clínico de la obesidad abdominal. *Endocrinol y Nutr*. 2007;54(5):265–71.
 44. Strain GW, Zumoff B. The relationship of weight-height indices of obesity to body fat content. *J Am Coll Nutr*. 1992 Dec;11(6):715–8.
 45. Frankenfield DC, Rowe WA, Cooney RN, Smith JS, Becker D. Limits of body mass index to detect obesity and predict body composition. *Nutrition*. 2001 Jan;17(1):26–30.
 46. Rankinen T, Kim SY, Pérusse L, Després JP, Bouchard C. The prediction of abdominal visceral fat level from body composition and anthropometry: ROC analysis. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1999 Aug;23(8):801–9.
 47. Snell-Bergeon JK, Hokanson JE, Kinney GL, Dabelea D, Ehrlich J, Eckel RH, et al. Measurement of abdominal fat by CT compared to waist circumference and BMI in explaining the presence of coronary calcium. *Int J Obes*. 2004 Oct 5;28(12):1594–9.
 48. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International . *Circulation*. 2009 Oct 20;120(16):1640–5.
 49. Alvarez León EE, Ribas Barba L, Serra Majem L. Prevalencia del síndrome metabólico en la población de las islas Canarias. *Med Clin (Barc)*. 2003 Feb 15;120(5):172–4.
 50. Felber J-P, Golay A. Pathways from obesity to diabetes. *Int J Obes*. 2002 Aug 15;26(s2):S39–45.
 51. Scheen AJ. From obesity to diabetes: why, when and who? *Acta Clin Belg*. Jan;55(1):9–15.
 52. Onat A, Avci GS, Barlan MM, Uyarel H, Uzunlar B, Sansoy V. Measures of abdominal obesity assessed for visceral adiposity and relation to coronary risk. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004 Aug;28(8):1018–25.

53. Fox CS, Massaro JM, Hoffmann U, Pou KM, Maurovich-Horvat P, Liu C-Y, et al. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2007 Jul 3;116(1):39–48.
54. Pouliot MC, Després JP, Lemieux S, Moorjani S, Bouchard C, Tremblay A, et al. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am J Cardiol*. 1994 Mar 1;73(7):460–8.
55. Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, Rodriguez C, Heath CW. Body-Mass Index and Mortality in a Prospective Cohort of U.S. Adults. *N Engl J Med*. 1999 Oct 7;341(15):1097–105.
56. Wilson PWF, D'Agostino RB, Sullivan L, Parise H, Kannel WB. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. *Arch Intern Med*. 2002 Sep 9;162(16):1867–72.
57. Rexrode KM, Carey VJ, Hennekens CH, Walters EE, Colditz GA, Stampfer MJ, et al. Abdominal adiposity and coronary heart disease in women. *JAMA*. 1998 Dec 2;280(21):1843–8.
58. Lozano MJL, González AS. Actualización en obesidad. *Cad atención primaria*. 2010;17:101–7.
59. López Tricas J. Metabolismo de los ácidos grasos: conceptos básicos - info-farmacia [Internet]. [cited 2015 Oct 11]. Available from: <http://www.info-farmacia.com/bioquimica/metabolismo-de-los-acidos-grasos-co>
60. Martínez J, Torres PV. Los ácidos grasos y la lipotoxicidad: implicaciones metabólicas. *Rev la Fac Med la UNAM*. 2013;56:5–18.
61. Aguilar-salinas C. Adiposidad abdominal como factor de riesgo para enfermedades crónicas. *Acta Médica México*. 2007;49:311–6.
62. Diabetes S De, Rodríguez R. Resistencia a la insulina y su implicación en múltiples factores de riesgo asociados a diabetes tipo 2. *Med Clín*. 2002;119(12):458–63.
63. Kanauchi M, Yamano S, Kanauchi K, Saito Y. Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance, Quantitative Insulin Sensitivity Check Index, and Oral Glucose Insulin Sensitivity Index in Nonobese, Nondiabetic Subjects with High-Normal Blood Pressure. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Jul;88(7):3444–6.
64. Vague P, Nguyen L. Rationale and methods for the estimation of insulin secretion in a given patient: from research to clinical practice. *Diabetes*. 2002 Feb;51 Suppl 1:S240–4.
65. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner

- RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985 Jul;28(7):412–9.
66. Liao M-T, Sung C-C, Hung K-C, Wu C-C, Lo L, Lu K-C. Insulin Resistance in Patients with Chronic Kidney Disease. *J Biomed Biotechnol*. 2012 Jan;2012:1–12.
67. Pham H, Utzschneider KM, de Boer IH. Measurement of insulin resistance in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2011 Nov;20(6):640–6.
68. Manzur F, Ciro A, Norma A. Adipocitos, obesidad visceral, inflamación y enfermedad cardiovascular. *Rev Colomb Cardiol*. 2010;17(5):207–13.
69. Mar GE, Rodríguez EM, Jesús J De. La grasa visceral y su importancia en obesidad. *Rev Endocrinol y Nutr*. 2002;10(3):121–7.
70. Rosado EL, Monteiro JB, Chaia V, Lago MF. Efecto de la leptina en el tratamiento de la obesidad e influencia de la dieta en la secreción y acción de la hormona. *Nutr Hosp*. 2006;21(6):686–93.
71. Ho SC, Tai ES, Eng PH, Ramli A, Tan CE, Fok AC. A study in the relationships between leptin, insulin, and body fat in Asian subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1999 Mar;23(3):246–52.
72. Ostlund RE, Yang JW, Klein S, Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age, and metabolic covariates. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996 Nov;81(11):3909–13.
73. Raben A, Astrup A. Leptin is influenced both by predisposition to obesity and diet composition. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000 Apr;24(4):450–9.
74. Ahrén B, Månsson S, Gingerich RL, Havel PJ. Regulation of plasma leptin in mice: influence of age, high-fat diet, and fasting. *Am J Physiol*. 1997 Jul;273(1 Pt 2):R113–20.
75. Cooling J, Blundell J. Differences in energy expenditure and substrate oxidation between habitual high fat and low fat consumers (phenotypes). *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1998 Jul;22(7):612–8.
76. Díez JJ, Bossola M, Fernández-Reyes MJ, Di Stasio E, Tazza L, Luciani G, et al. Relationship between leptin and all-cause and cardiovascular mortality in chronic hemodialysis patients. *Nefrologia*. 2011 Jan;31(2):206–12.
77. Aguilera A, Bajo MA, Rebollo F, Díez JJ, Díaz C, Paiva A, et al. Leptin as a marker of nutrition and cardiovascular risk in peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial*. 2002 Jan;18:212–7.

78. Palomer X, Pérez A, Blanco-Vaca F. Adiponectina: un nuevo nexo entre obesidad, resistencia a la insulina y enfermedad cardiovascular. *Med Clin (Barc)*. 2005 Mar 19;124(10):388–95.
79. Díez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol*. 2003 Mar;148(3):293–300.
80. Díez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived protein adiponectin in human disease: an update. *Mini Rev Med Chem*. 2010 Aug;10(9):856–69.
81. Domínguez Reyes C. Adiponectina: El tejido adiposo más allá de la reserva inerte de energía. *Rev Endocrinol y Nutr*. 2007;15(3):149–55.
82. Shimada K, Miyazaki T, Daida H. Adiponectin and atherosclerotic disease. *Clin Chim Acta*. 2004 Jun;344(1–2):1–12.
83. Iglesias P, Díez JJ. Adipose tissue in renal disease: clinical significance and prognostic implications. *Nephrol Dial Transplant*. 2010 Jul;25(7):2066–77.
84. Unger RH. Lipotoxic Diseases. *Annu Rev Med*. 2002 Feb;53(1):319–36.
85. Wende AR, Abel ED. Lipotoxicity in the heart. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids*. 2010 Mar;1801(3):311–9.
86. Trauner M, Arrese M, Wagner M. Fatty liver and lipotoxicity. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids*. 2010 Mar;1801(3):299–310.
87. Izquierdo A, Medina-Gómez G. Papel de la lipotoxicidad en el desarrollo de la lesión renal en el síndrome metabólico y el envejecimiento. *Diálisis y Traspl*. 2012;33(3):89–96.
88. Kharitonov A. FGFs and metabolism. *Curr Opin Pharmacol*. 2009 Dec;9(6):805–10.
89. Ohta H, Konishi M, Itoh N. FGF10 and FGF21 as regulators in adipocyte development and metabolism. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2011 Dec;11(4):302–9.
90. Kralisch S, Fasshauer M. Fibroblast growth factor 21: effects on carbohydrate and lipid metabolism in health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2011 Jul;14(4):354–9.
91. Cuevas-Ramos D, Aguilar-Salinas C a, Gómez-Pérez FJ. Metabolic actions of fibroblast growth factor 21. *Curr Opin Pediatr*. 2012 Aug;24(4):523–9.
92. Semba RD, Sun K, Egan JM, Crasto C, Carlson OD, Ferrucci L. Relationship of serum fibroblast growth factor 21 with abnormal glucose

- metabolism and insulin resistance: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Apr;97(4):1375–82.
93. Ulu SM, Yuksel S, Altuntaş A, Kacar E, Ahsen A, Altug A, et al. Associations between serum hepcidin level, FGF-21 level and oxidative stress with arterial stiffness in CAPD patients. *Int Urol Nephrol.* 2014 Dec;46(12):2409–14.
 94. Cuevas-Ramos D, Aguilar-Salinas CA. Modulation of energy balance by fibroblast growth factor 21. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2016 Jun 20;
 95. Iglesias P, Selgas R, Romero S, Díez JJ. Biological role, clinical significance, and therapeutic possibilities of the recently discovered metabolic hormone fibroblastic growth factor 21. *Eur J Endocrinol.* 2012 Sep;167(3):301–9.
 96. Ni B, Farrar JS, Vaitkus JA, Celi FS. Metabolic Effects of FGF-21: Thermoregulation and Beyond. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2015;6:148.
 97. Chau ML, Jiapinggao, Qingyang, Zhidanwu1. Fibroblast growth factor 21 regulates energy metabolism by activating the AMPK–SIRT1– PGC-1 α pathway. *PNAS.* 2010;107.
 98. Lin Z, Zhou Z, Liu Y, Gong Q, Yan X, Xiao J, et al. Circulating FGF21 levels are progressively increased from the early to end stages of chronic kidney diseases and are associated with renal function in Chinese. *PLoS One.* 2011 Jan;6(4):e18398.
 99. Han SH, Choi SH, Cho BJ, Lee Y, Lim S, Park YJ, et al. Serum fibroblast growth factor-21 concentration is associated with residual renal function and insulin resistance in end-stage renal disease patients receiving long-term peritoneal dialysis. *Metab Clin Exp.* 2010 Nov;59(11):1656–62.
 100. Anderstam B, Ann-Christin BH, Valli A, Stenvinkel P, Lindholm B, Suliman ME. Modification of the oxidative stress biomarker AOPP assay: Application in uremic samples. *Clin Chim Acta.* 2008;
 101. Lai KN, Leung JCK. Inflammation in peritoneal dialysis. *Nephron - Clin Pract.* 2010;116:11–8.
 102. Velloso MSS, Otoni A, de Paula Sabino A, de Castro WV, Pinto SWL, Marinho MAS, et al. Peritoneal dialysis and inflammation. *Clin Chim Acta.* 2014 Mar 20;430:109–14.
 103. Akchurin OM, Kaskel F. Update on inflammation in chronic kidney disease. *Blood Purif.* 2015;39(1–3):84–92.
 104. Elewa U, Sanchez-Niño MD, Martin-Cleary C, Fernandez-Fernandez B, Egido J, Ortiz A. Cardiovascular risk biomarkers in CKD: the inflammation link and the road less traveled. *Int Urol Nephrol.* 2012 Dec;44(6):1731–44.

105. Nassar GM. Preventing and treating inflammation: role of dialysis access management. *Semin Dial.* 26(1):28–30.
106. Cohen G, Hörl WH. Immune dysfunction in uremia—an update. *Toxins (Basel).* 2012 Nov;4(11):962–90.
107. Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, Argil   A, Baurmeister U, Brunet P, et al. Review on uremic toxins: Classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int.* 2003;63:1934–43.
108. Hsu H-J, Yen C-H, Wu I-W, Hsu K-H, Chen C-K, Sun C-Y, et al. The Association of Uremic Toxins and Inflammation in Hemodialysis Patients. D’Addio F, editor. *PLoS One.* 2014 Jul 22;9(7):e102691.
109. Dobre M, Meyer TW, Hostetter TH. Searching for uremic toxins. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013 Feb;8(2):322–7.
110. Machowska A, Carrero JJ, Lindholm B, Stenvinkel P. Therapeutics targeting persistent inflammation in chronic kidney disease. *Transl Res.* 2015 Jun 25;167(1):204–13.
111. Lau WL, Kalantar-Zadeh K, Vaziri ND. The Gut as a Source of Inflammation in Chronic Kidney Disease. *Nephron.* 2015;130(2):92–8.
112. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, et al. Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2005 Jan;45(1):39–47.
113. Cao W, Hou FF, Nie J. AOPPs and the progression of kidney disease. *Kidney Int Suppl.* 2014;4(1):102–6.
114. Zhou Q, Wu S, Jiang J, Tian J, Chen J, Yu X, et al. Accumulation of circulating advanced oxidation protein products is an independent risk factor for ischaemic heart disease in maintenance haemodialysis patients. *Nephrology (Carlton).* 2012 Sep;17(7):642–9.
115. Xu H, Cabezas-Rodríguez I, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Snaedal S, et al. Increased Levels of Modified Advanced Oxidation Protein Products Are Associated with Central and Peripheral Blood Pressure in Peritoneal Dialysis Patients. *Perit Dial Int.* 2015 Jul 1;35(4):460–70.
116. Koenig W, Wanner C. C-reactive protein and coronary artery disease--what is the link? *Nephrol Dial Transplant.* 1999 Dec 1;14(12):2798–800.
117. Savini I, Catani MV, Evangelista D, Gasperi V, Avigliano L. Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *Int J Mol Sci.* 2013;14(5):10497–538.
118. Kocak H, Gumuslu S, Sahin E, Ceken K, Gocmen Y a., Yakupoglu G, et al. Advanced oxidative protein products are independently associated with

- endothelial function in peritoneal dialysis patients. *Nephrology*. 2009;14:273–80.
119. Korkmaz GG, Altınoglu E, Civelek S, Sozer V, Erdenen F, Tabak O, et al. The association of oxidative stress markers with conventional risk factors in the metabolic syndrome. *Metabolism*. 2013 Jun;62(6):828–35.
 120. Choi SJ, Kim NR, Hong SA, Lee WB, Park MY, Kim JK, et al. Changes in body fat mass in patients after starting peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*. 31(1):67–73.
 121. Fernström A, Hylander B, Moritz A, Jacobsson H, Rössner S. Increase of intra-abdominal fat in patients treated with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*. 18(2):166–71.
 122. Vague J. The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *Am J Clin Nutr*. 1956;4(1):20–34.
 123. Mahabir S, Ettinger S, Johnson L, Baer DJ, Clevidence BA, Hartman TJ, et al. Measures of adiposity and body fat distribution in relation to serum folate levels in postmenopausal women in a feeding study. *Eur J Clin Nutr*. 2007 Apr 25;62(5):644–50.
 124. Ramos RML, Armán JA, Galeano NA, Mu A, Gómez JMG, Molinero JG. Dual energy X-ray absorptiometry: Fundamentals , methodology , and clinical applications &. *Radiologia*. 2012;54(5):410–23.
 125. Wiklund P, Toss F, Weinehall L, Hallmans G, Franks PW, Nordström A, et al. Abdominal and gynoid fat mass are associated with cardiovascular risk factors in men and women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Nov 2;93(11):4360–6.
 126. Koppe L, Pelletier CC, Alix PM, Kalbacher E, Fouque D, Soulage CO, et al. Insulin resistance in chronic kidney disease: new lessons from experimental models. *Nephrol Dial Transplant*. 2014 Sep;29(9):1–9.
 127. Díez JJ, Iglesias P, Fernández-Reyes MJ, Aguilera A, Bajo MA, Alvarez-Fidalgo P, et al. Serum concentrations of leptin, adiponectin and resistin, and their relationship with cardiovascular disease in patients with end-stage renal disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005 Feb;62(2):242–9.
 128. Estrada PN, Bajo MA, del Peso G, Iglesias P, Díez JJ, Fernández-Reyes MJ, et al. [Hypoadiponectinemia: a cardiovascular risk factor in uremia. A view from the evidence]. *Nefrología*. 2006 Jan;26(6):653–7.
 129. Hardy OT, Czech MP, Corvera S. What causes the insulin resistance underlying obesity? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2012 Apr;19(2):81–7.
 130. Qatanani M, Lazar MA. Mechanisms of obesity-associated insulin

- resistance: many choices on the menu. *Genes Dev.* 2007 Jun 15;21(12):1443–55.
131. Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000 Aug 15;106(4):473–81.
 132. Bernardo AP, Oliveira JC, Santos O, Carvalho MJ, Cabrita A, Rodrigues A. Insulin Resistance in Nondiabetic Peritoneal Dialysis Patients: Associations with Body Composition, Peritoneal Transport, and Peritoneal Glucose Absorption. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2015 Dec 7;10(12):2205–12.
 133. Gürsu EM, Ozdemir A, Yalinbas B, Gürsu RU, Canbakan M, Güven B, et al. The effect of icodextrin and glucose-containing solutions on insulin resistance in CAPD patients. *Clin Nephrol.* 2006 Oct;66(4):263–8.
 134. Ascaso JF, Romero P, Real JT, Priego A, Valdecabres C, Carmena R. Cuantificación de insulinoresistencia con los valores de insulina basal e índice HOMA en una población no diabética. *Med Clin (Barc).* :530–3.
 135. Li Y, Zhang L, Gu Y, Hao C, Zhu T. Insulin resistance as a predictor of cardiovascular disease in patients on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 33(4):411–8.
 136. Yoon C-Y, Lee MJ, Kee YK, Lee E, Joo YS, Han IM, et al. Insulin resistance is associated with new-onset cardiovascular events in nondiabetic patients undergoing peritoneal dialysis. *Kidney Res Clin Pract.* 2014 Dec;33(4):192–8.

ANEXO

ANEXO A

Los resultados presentados en esta tesis han sido publicados en:

➤ **Artículos originales:**

- Díez JJ, Bossola M, Fernández-Reyes MJ, Di Stasio E, Tazza L, Luciani G, Codoceo R, Iglesias P, Rodríguez A, González E, Selgas R. "Relación entre leptina y mortalidad global y cardiovascular en pacientes en hemodiálisis." Nefrología. 2011;31(2):206-12.
- Rafael Sánchez-Villanueva, Patricia Estrada, Gloria del Peso, Cristina Grande, Juan J Díez, Pedro Iglesias, Elena González, Rafael Selgas, M^aAuxiliadora Bajo. "Análisis repetido de la resistencia insulínica estimada mediante índice HOMA en pacientes no diabéticos en diálisis peritoneal y su relación con la enfermedad cardiovascular y mortalidad". Nefrología. 2013;33:85-92.
- Elena Gonzalez, Maria-Auxiliadora Bajo, Juan J. Carrero, Bengt Lindholm, Cristina Grande, Rafael Sánchez-Villanueva, Gloria Del Peso, Mariana Díaz-Almirón, Pedro Iglesias, Juan J. Díez and Rafael Selgas. "An increase of plasma advanced oxidation protein products (AOPPs) levels is associated with cardiovascular risk in incident peritoneal dialysis patients. A pilot study". Oxidative Medicine and Cellular Longevity. vol. 2015, Article ID 219569, 6 pages, 2015.
- Elena González, Juan J Díez, Almudena Pérez Torres, M^a Auxiliadora Bajo, Gloria del Peso, Rafael Sánchez-Villanueva, Cristina Grande, Olaia Rodríguez, Mónica Coronado, Carmen Gómez Candela, Mariana Díaz-Almirón, Pedro Iglesias, Rafael Selgas. "Análisis de la composición corporal mediante bioimpedancia eléctrica y la absorciometría dual de rayos X (DXA), así como de las adipocitoquinas circulantes en pacientes en hemodiálisis: la ganancia de grasa abdominal como factor de riesgo cardiovascular añadido". Nefrología. 2016. Doi:10.1016/ j.nefro.2016.06.007

- Elena González, Juan J. Díez, M^a Auxiliadora Bajo, Gloria del Peso, Cristina Grande, Olaia Rodríguez, Mariana Díaz-Almirón, Pedro Iglesias, Rafael Selgas. "Fibroblast Growth Factor 21 in peritoneal dialysis patients: natural history and metabolic implications". Plos One. 2016. Mar 17;11(3):e0151698.

Otros trabajos publicados durante el desarrollo de esta tesis:

➤ Revisiones:

- Juan Jesús Carrero, María Elena González. "Inflamación en diálisis". En: Lorenzo V, López Gómez JM (Eds). Nefrología al Día. 2012.

Los resultados presentados en esta tesis han sido parcialmente presentados en congresos científicos:

Comunicaciones orales:

- Rafael Selgas, Elena Gonzalez, Juan J. Diez, MA Auxiliadora Bajo, Gloria Del Peso, Olaia Rodríguez, Mariana Díaz Almirón, Pedro Iglesias. "Factor fibroblástico de crecimiento 21 (FGF-21) en pacientes en Diálisis peritoneal: Historia natural e implicaciones metabólicas. IX reunión de Diálisis Peritoneal 2016.
- Juan J Díez, Elena González, María Auxiliadora Bajo, Gloria Del Peso, Cristina Grande, Olaia Rodríguez, Mariana Díaz-Almirón, Pedro Iglesias, Rafael Selgas. "Natural history and metabolic implications of the new hormone fibroblast growth factor 21 in uremic patients on peritoneal dialysis". 18th European Congress of Endocrinology 2016.
- Elena González. "Importancia del FGF-21". XI Symposium de nutrición en la Enfermedad Renal Crónica 2016.

Comunicaciones tipo póster:

- E. González, MA. Bajo, JJ. Carrero, B. Lindholm, R. Sánchez-Villanueva, G. Del Peso, M. Díaz-Almirón, P. Iglesias, JJ. Díez, R. Selgas. “El incremento de los niveles plasmáticos de los productos proteicos de oxidación avanzada se asocia con un aumento del riesgo cardiovascular en los pacientes de diálisis peritoneal”. XLV Congreso de la Sociedad Española de Nefrología, 2015.